

水產試驗所特刊 第33號

FRI Special Publication No.33

# 水產

The Pro-health  
Aquafeed

益  
健  
飼  
料

農業部水產試驗所  
Fisheries Research Institute, MOA





# 水產

益健  
飼料

The Pro-health  
Aquafeed

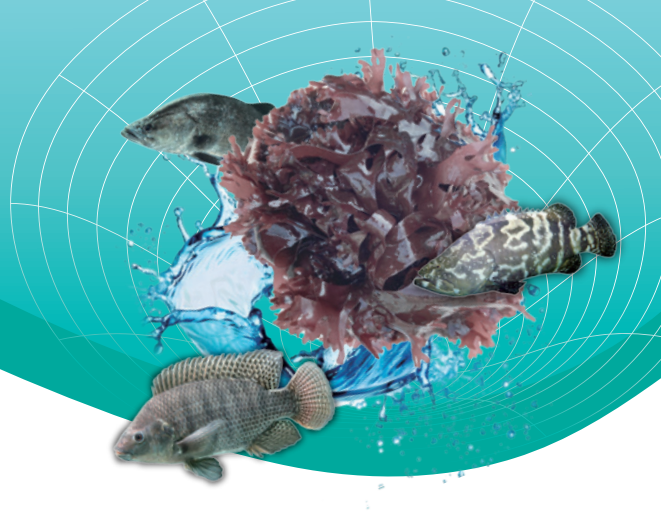
農業部水產試驗所  
Fisheries Research Institute, MOA  
中華民國一一三年十一月  
November 2024

# 序

水產養殖業在全球需求日益增長的背景下，迎來了機遇與挑戰，臺灣的主要養殖物種如臺灣鯛、鱸魚、石斑魚、白蝦及午仔魚，每年產量達12萬公噸。然而，隨著氣候變遷帶來的極端天氣如高溫 and 強降雨，養殖環境面臨嚴峻挑戰，導致養殖動物容易爆發疾病。而國際間對抗生素使用的限制愈加嚴苛，促使我們必須尋求更為安全和可持續的替代方案，隨著水產養殖業者老齡化的加劇，簡單易行的養殖技術變得尤為重要，近年開始有不少養青回歸家鄉從事水產養殖，使用對環境友善、更新穎、更便利的養殖模式更顯重要，因此本所致力於開發方便操作的養殖方法，使養殖業者能輕鬆操作，提升整體養殖效率和產量。益生菌作為抗生素的替代品，近年來展現了巨大的潛力。在臺灣，早已有養殖業者使用益生菌來改善水質或提高魚蝦免疫力，然而傳統的人工拌合方式不僅費時費力，還難以保證益生菌在飼料中的活性，因大多數益生菌不耐高溫，若直接於飼料製程中添加，其活性容易被高溫破壞，這使得市面上鮮少有飼料廠量產含有益生菌的水產飼料。

為了解決養殖業者在使用口服益生菌上的不便，並推廣友善環境的養殖模式，本所研製出保有益生菌活性的水產益健飼料。自2015年起，我們開始篩選適合水產動物的益生菌，至2021年，串聯本所各中心的核心技術，藉由多重乳化包覆技術，大幅提升益生菌在飼料中的活性，此外我們積極與大型





飼料廠合作，進行商業化試量產，並與民間養殖業者合作，建置田間驗證場和示範場實際驗證益健飼料的成果。同時，為了促進益健飼料的多元化發展，我們也融入了藻類多醣，多醣體不僅能促進水產動物的免疫系統，還能提高其抗病能力，增強魚蝦生長速度，除了可將藻渣轉化為有價值的副產品、減少廢棄物，還能創造經濟效益，符合循環農業的理念。

本刊將詳細介紹這幾年來益健飼料的研發成果，從實驗室研究到田間試驗驗證，逐步擴大益生菌在產業中的應用，推動臺灣水產養殖業的可持續發展，面對氣候變遷與漁村勞力不足所帶來的挑戰，我們期待益健飼料能為臺灣水產養殖業帶來新機遇，提升產業競爭力，實現永續發展。

農業部水產試驗所

所長

張錦宜

謹識

中華民國一一三年十一月





# 目次 Contents

## ■ 緒論

..... 劉佩玟、楊順德	
一、前言 .....	1
二、益生菌在水產養殖之應用 .....	1
參考文獻 .....	4

## ■ 水產試驗所研發之益生菌特點與益生菌添加於飼料中菌數之探討

..... 黃美瑩、陳凱琳、曾福生	
一、水產養殖與弧菌病(vibriosis) .....	5
二、益生菌及合益素(synbiotics)應用在水產養殖之效益 .....	6
三、篩選水產生物的功能性益生菌 .....	8
四、益健飼料中益生菌活性評估 .....	11
五、益健飼料中益生菌活性探討 .....	14
六、結語 .....	15
參考文獻 .....	16

## ■ 海水經濟魚蝦益健飼料的運用與驗證

..... 周瑞良、周芷儀、劉佩玟、鄭世榮、陳盈達、吳豐成	
一、前言 .....	19
二、益生菌乳化後包覆技術及活性評估 .....	20
三、白蝦益健飼料及驗證場域投餵試驗 .....	22
四、午仔魚益健飼料及驗證場域投餵試驗 .....	24
五、結語 .....	27
參考文獻 .....	28

## ■ 淡水經濟魚種益健飼料最適應用研究

..... 陳建彰、劉佩玟、謝豐群、黃美瑩、周瑞良、蘇慧敏、郭裔培、楊順德	
一、前言 .....	29
二、業界吳郭魚益健飼料技術驗證場域建置 .....	32
三、吳郭魚投餵益健飼料成長效能 .....	33
四、吳郭魚養殖環境水質參數 .....	34
五、吳郭魚養殖水體及腸道菌相檢測 .....	34



六、吳郭魚攻毒試驗 .....	37
七、吳郭魚養殖用藥量及用藥頻率調查 .....	37
八、吳郭魚腸道組織型態分析 .....	37
九、吳郭魚投餵益健飼料養殖效益分析 .....	39
十、業界金目鱸益健飼料技術驗證場域建置 .....	41
十一、金目鱸投餵益健飼料成長效能 .....	41
十二、金目鱸微生物菌相探討 .....	42
十三、金目鱸腸道組織型態分析 .....	44
十四、金目鱸投餵益健飼料養殖效益分析 .....	44
十五、應用益健飼料的健康管理技術 .....	44
十六、結語 .....	47
參考文獻 .....	48

## ■ 養殖魚類投餵水產益健飼料對降低體內病原菌之成效評估

..... 劉珮玟、陳建彰、謝豐群、林佳勳、楊順德	
一、前言 .....	49
二、水產益健飼料應用成效 .....	50
三、病原菌調查結果 .....	52
四、結語 .....	55
參考文獻 .....	56

## ■ 添加海藻發酵物之水產益健飼料應用成效初探

..... 黃侑勳、李沛珊、易琮凱、蔡慧君、何源興	
一、前言 .....	57
二、海藻發酵物簡介 .....	60
三、益健飼料應用成效 .....	62
四、結語 .....	70
參考文獻 .....	71







# 緒論

劉佩玟、楊順德

農業部水產試驗所淡水養殖研究中心

## 一、前言

由於全球人口的增加以及海洋漁業資源有限，水產養殖成為近年成長快速的食物供應產業以提供人們動物性蛋白質來源，而水產動物的健康與外界環境保持著密切的關係，高密度飼養、水質污染、含有殺蟲劑的農業廢水等，都增加了養殖動物感染細菌、真菌、病毒性疾病的風險 (Banerjee and Ray, 2017)。隨著人們對水產品需求的增加與養殖技術及設備的進步，部分養殖業者為了提高產量進而密集投餌，未食用完的殘餌及排泄物若是沒有妥善的處理，容易使水質與底質敗壞，再加上近年全球氣候變遷造成的極端氣候更使得養殖環境難以控制，高水溫有利於多數水產病原菌的孳生，嚴重時更會造成疾病爆發，降低食物供應產業利潤並影響國家社會的經濟狀況，也阻礙了國家社會經濟的發展 (Bondad-Reantaso et al., 2005)。

治療細菌性疾病通常使用抗生素處理，但若將其作為經常性預防疾病的手段，則容易造成細菌抗藥性的產生。水產動物常見的病原菌例如產氣單孢菌屬 (*Aeromonas* spp.)、遲鈍愛德華氏菌 (*Edwardsiella*

*tarda*)、創傷弧菌 (*Vibrio vulnificus*) 與腸炎弧菌 (*V. parahaemolyticus*) 等，同時也是感染人類的病原菌，若長期使用抗生素恐造成具有抗藥基因的細菌在兩物種之間傳播 (Allameh et al., 2016; Brogden et al., 2014)。在美國、加拿大等多數國家及地區，已禁止某些抗生素在水產養殖業使用，因此，於飼料當中補充益生菌 (probiotics)，藉由益生菌的多種機制來抵抗病原菌以取代抗生素為一種有效的策略 (Bandyopadhyay et al., 2015; Wu et al., 2015)。再者，使用抗生素或廣效性藥物處理致病性病原菌的同時也會將有益的微生物殺死，更促使益生菌在水產養殖業的快速發展 (Lakshmi et al., 2013)。

## 二、益生菌在水產養殖之應用

益生菌的概念在水產養殖與陸生動物領域，其定義有些許不同，但可以確定的是益生菌在兩者皆能藉由調整微生物群結構，在維持腸道健康上扮演著重要的角色 (Nayak, 2010)，此外益生菌在水中也能以不同機制來分解養殖池水中的有機質，藉由生物修復 (bioremediation) 與生物控制



(biocontrol) 來改善環境污染，減少養殖廢水的排放 (Hasan et al., 2020)。益生菌依照其作用模式可大概分成腸道型 (gut probiotics) 與環境型 (environmental probiotics) 兩大類，前者藉由與食物一起口服進入腸道以改善菌叢，常見的有芽孢桿菌屬 (*Bacillus* spp.)、乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 等；後者藉由競爭與消耗環境中的營養物質來減少病原菌數量，常見的有芽孢桿菌屬、亞硝化單胞菌屬 (*Nitrosomonas* spp.) 以及硝化菌屬 (*Nitrobacters* spp.) 等。

如何篩選出適合水產動物的益生菌也是影響其效果的關鍵，除了必需參考許多研究文獻外，第一步也是最重要則是通過一步步的基礎科學實驗來驗證，一般而言，益生菌多自健康魚蝦腸道中分離，而在眾多的益生菌中，近年更以乳酸菌類 (Lactic acid bacteria) 較受歡迎 (Giri et al., 2013)。雖然至今已有許多益生菌被發表，但多數侷限於實驗室規模，因此一個全面的試驗對益生菌在業界商業化是十分重要的 (Pandiyana et

al., 2013)。在臺灣水產養殖業中，業者早已在飼料中使用口服益生菌，但添加益生菌的過程繁瑣且耗費人力，因此，本所在飼料製程中將益生菌或益生元 (prebiotics) 直接加入，並成功克服了高溫製程對益生菌的影響，研發出成品即含有益生菌的水產益健飼料 (pro-health aquafeed)。益健飼料不僅能促進水產生物的健康，其即拆即投餵的特性也有助於減少人力負擔並提高養殖業者對益生菌的使用意願。

為了促進養殖業者對益健飼料的認識及推廣環境友善養殖，本所自 2021 年開始於各水產養殖協會推廣益健飼料應用成果，並積極參與農業科技相關成果發表會與國際漁業展，廣邀產學研各界參與論壇，共同討論與分享業界使用益健飼料的經驗 (圖 1—4)。而在將益健飼料擴散的同時，藉由成本效益分析與考量消費端的實際需求，歸納出益健飼料中益生菌最適添加量、建議保存條件與適當投餵頻率等，使益健飼料更能實地應用，大幅提升商業化的程度。



圖 1 本所與養殖協會共同辦理益健飼料應用成果





圖 2 本所與農科院共同辦理益健飼料應用成果



圖 3 本所參展 2023 年國際漁業展



圖 4 本所辦理水產益健飼料論壇暨技轉廠商簽約儀式



本刊將會逐一介紹水產益健飼料中的益生菌篩選流程及其培養技術、益生菌添加入飼料製程的關鍵技術、益健飼料中益生菌的活性評估、以海藻多醣作為多樣化的益健飼料研發以及應用於養殖動物的田間試驗成果，並推廣到產業界，介紹在不同養殖環境與養殖業者的操作方式下使用益健飼料的實際案例（圖 5）。



圖 5 研究團隊定期前往嘉義布袋（圖上）、義竹（圖中）養殖場採樣，以及與業者洽談作為益健飼料實證場域（圖下）

## 參考文獻

- Allameh, S. K., F. M. Yusoff., E. Ringø., H. M. Daud., C. R. Saad and A. Ideris (2016) Effects of dietary mono-and multiprobiotic strains on growth performance, gut bacteria and body composition of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850). *Aquac Nutr.*, 22(2): 367-373.
- Allameh, S. K., E. Ringø., F. M. Yusoff., H. M. Daud and A. Ideris (2017) Dietary supplementation of *Enterococcus faecalis* on digestive enzyme activities, short chain fatty acid production, immune system response and disease resistance of Javanese carp (*Puntius gonionotus*, Bleeker 1850). *Aquac Nutr.*, 23(2): 331-338.
- Bandyopadhyay, P., S. Mishra., B. Sarkar., S. K. Swain., A. Pal., P. P. Tripathy and S. K. Ojha (2015) Dietary *Saccharomyces cerevisiae* boosts growth and immunity of IMC *Labeo rohita* (Ham.) juveniles. *Indian J. Microbiol.*, 55(1): 81-87.
- Banerjee, G and A. K. Ray (2017) The advancement of probiotics research and its application in fish farming industries. *Res. Vet. Sci.*, 115: 66-77.
- Bondad-Reantaso, M. G., R. P. Subasinghe., J. R. Arthur., K. Ogawa., S. Chinabut., R. Adlard., T. Zilong and M. Shariff (2005) Disease and health management in Asian aquaculture. *Vet. Parasitol.*, 132(3-4): 249-272.
- Brogden, G., T. Krimmling., M. Adamek., H. Y. Naim., D. Steinhagen and M. von Köckritz-Blickwede (2014) The effect of  $\beta$ -glucan on formation and functionality of neutrophil extracellular traps in carp (*Cyprinus carpio* L). *Dev. Comp. Immunol.*, 44(2): 280-285.
- Giri, S. S., V. Sukumaran and M. Oviya (2013) Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* VSG3 improves the growth, immunity, and disease resistance of tropical freshwater fish, *Labeo rohita*. *Fish Shellfish Immunol.*, 34(2): 660-666.
- Hasan, K. N. and G. Banerjee (2020) Recent studies on probiotics as beneficial mediator in aquaculture: a review. *J. Basic Appl. Zool.*, 81: 53.
- Lakshmi, B., B. Viswanath and D. V. Sai Gopal (2013) Probiotics as antiviral agents in shrimp aquaculture. *J. Pathog.*, 424123.
- Nayak, S. K. (2010) Role of gastrointestinal microbiota in fish. *Aquaculture Research*, 41(11): 1553-1573.
- Pandiyan, P., D. Balaraman., R. Thirunavukkarasu., E. G. J. George., K. Subaramaniyan., S. Manikkam and B. Sadayappan (2013) Probiotics in aquaculture. *Drug Invent. Today.*, 5(1): 55-59.
- Wu, Z. Q., C. Jiang., F. Ling and G. X. Wang (2015) Effects of dietary supplementation of intestinal autochthonous bacteria on the innate immunity and disease resistance of grass carp (*Ctenopharyngodon idellus*). *Aquaculture*, 438: 105-114.



# 水產試驗所研發之益生菌特點 與益生菌添加於飼料中菌數之探討

黃美瑩、陳凱琳、曾福生  
農業部水產試驗所水產養殖組

## 摘要

本所自白蝦 (*Penaeus vannamei*) 所分離出的益生菌 (probiotics) 短小芽孢桿菌 D5 (*Bacillus pumilus* D5) 為水產病原弧菌之拮抗菌，具有抑制溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*)、腸炎弧菌 (*V. parahaemolyticus*) 及哈維氏弧菌 (*V. harveyi*) 等 6 種常見水產病原弧菌之能力。添加對弧菌具拮抗作用的 *B. pumilus* D5 於飼料中餵食白蝦，可以提升白蝦抗腸炎弧菌感染之功能。另，本所自鱸魚篩選出乳酸菌腸膜明串珠菌 B4 (*Leuconostoc mesenteroides* B4)，該菌在含有蔗糖的培養基中，將蔗糖轉變為葡聚糖之益生素 (prebiotics)，也進一步研發成本低廉的 *L. mesenteroides* B4 與其葡聚糖之產物優格，應用於水產養殖，具有預防水產動物生病及提升成長之效果。又，飼料中合併添加 *L. mesenteroides* B4 與其葡聚糖之產物優格及 *B. pumilus* D5，餵食時間自 8 週縮短為 4 週，就可以有效提高白蝦在腸炎弧菌攻擊後之活存率。應用本所研發具有抗水產病原菌與增強成長及免疫能力的益生菌 + 益生素，組合成多功能複合微生物製劑，適當應用於各種水產飼料製程，不論以打粒或後包覆方式製做的益健飼料，經過 50°C 儲藏試驗 3 個月後，飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數都還能維持在原來理想的  $10^6$  CFU/g 範圍內。由於 *L. mesenteroides* B4 耐熱能力不佳，在魚蝦腸道中不易定殖，因此，將以菌體配合葡聚糖及具有營養成分的發酵代謝物，達到增強水產動物之生長，並提升對於細菌性疾病的抵抗力之效果。

## 一、水產養殖與弧菌病 (vibriosis)

2022 年，世界水產動物的產量超過一半是來自水產養殖 (FAO, 2022)，而影響水產養殖產量的重要因素為疾病導致的大量損失。聯合國糧食及農業組織報告指出，疾病的爆發嚴重限制水產養殖業的發展 (FAO, 2020)，估計每年全球水產養殖業因疾病損失約 30 億美元 (Defoirdt et al., 2007)。

弧菌為海水中最常見的細菌之一，弧菌病所引起的弧菌病，長久以來都是水產養殖產業的重大威脅之一，影響全世界的海洋魚類、甲殼類和雙殼類動物的養殖 (Sanches-Fernandes et al., 2022)，且造成巨大的經濟損失 (Saulnier et al., 2000; Ringø, 2020)；尤其是溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*)、腸炎弧菌 (*V. parahaemolyticus*) 及哈維氏弧菌 (*V. harveyi*) 等，是養殖水產動物主要的細菌性病原，魚類弧菌病的症狀多種多樣，包

括伴有廣泛外部皮膚損傷的出血性敗血症（鰭出血和潰瘍），器官的局灶性壞死（肝、脾、腎）、其他組織壞死（Kahla-Nakbi et al., 2007）、尾部完全侵蝕（Halдар et al., 2010）及骨骼畸形（脊柱前凸）（Abdel-Aziz et al., 2013）等。

溶藻弧菌、腸炎弧菌及哈維氏弧菌也是養殖蝦類主要的細菌性病原，造成蝦類肝胰腺、心臟、淋巴器官等壞死（Karunasagar et al., 1994）。近年來爆發於養殖草蝦（*Penaeus monodon*）與白蝦（*Penaeus vannamei*）的蝦類急性肝胰腺壞死病（acute hepatopancreatic necrosis disease, AHPND），也與弧菌感染相關（Tran et al., 2013）。本病於 2009 年初次在中國傳出疫情後，迄今已有好幾個亞洲國家的養殖草蝦與白蝦接連發生大量死亡（Leaño and Mohan, 2012），目前部分地區甚至已大幅減產（Shinn et al., 2018）。罹患 AHPND 的病蝦，會出現肝胰腺蒼白萎縮之肉眼病變，並可在大部分染病蝦類之肝胰腺分離出弧菌，2013 年，證實帶有特殊質體的腸炎弧菌是引起 AHPND 的細菌（Tran et al., 2013），該質體會產生與昆蟲同源二元毒素（binary toxin, PirA/PirB）（Lee et al., 2015）。最初引起 AHPND 的細菌在受感染蝦的胃中定殖（Tran et al., 2013），這些細菌產生的二元毒素隨後到達肝胰腺（Prachumwat et al., 2019）。在肝胰腺中，這種毒素會造成小管上皮細胞脫落，導致肝胰腺變蒼白（Tran et al., 2013）。此外，蝦類的胃中引起 AHPND 腸炎弧菌會影響表皮蛋白 DD9A/B 之功能（Chen et al., 2021）；並與圍生膜（peritrophic

membrane）結合（Chen et al., 2022）；改變蝦類胃的代謝（Kumar et al., 2021）；因此，Kumar 等（2023）引入了腸道微生物群恢復力的概念，並討論腸道微生物群失調的關鍵時刻，應用益生菌（probiotics）以恢復蝦腸道健康的策略。臺灣主要受弧菌病危害的養殖種類包括石斑、蝦類、吳郭魚和虱目魚等。

## 二、益生菌及合益素（synbiotics）應用在水產養殖之效益

### （一）益生菌

面對水產養殖生物遭受細菌感染威脅，養殖戶常使用抗生素加以預防與治療，在亞洲國家，水產生物養殖密度太高及抗生素的濫用，導致水產生物產量下降（Gatesoupe, 1999），而抗生素過量的使用易發生殘留而污染環境，及嚴重影響食品安全；此外，抗生素的濫用也可能導致具有抗藥性的菌株出現，該類具有抗藥性的細菌也會危害到人類健康（Schwarz et al., 2001）。

此外，近年來因氣候變遷，氣溫及水質的劇變容易造成水產養殖生物緊迫而誘發疾病，嚴重者造成大規模死亡。研究顯示，利用多樣化益生菌及益生素（prebiotics）可以有效改善水質，增加營養吸收，減低病原菌感染的風險，調節養殖生物的免疫，有效提高養殖成效（Wang et al., 2008；Gobi et al., 2018；Qin et al., 2020）。

益生菌通常定義為用以提升宿主健康





所使用的微生物，而水產的益生菌尚包括可以改善水質的微生物 (Nayak, 2010)。水產上所使用益生菌的範圍較陸上動物為廣，而主要種類為芽孢桿菌 (*Bacillus* spp.)、乳酸菌 (lactic acid bacteria) 及酵母菌 (yeast) 等 (Kesarcodi-Watson et al., 2008)。水產益生菌其功能包含下列幾項：改善水質、增加營養及改進飼料消化性、提升生物免疫能力、與病原菌競爭進而排斥病菌及抵抗病毒等。因此在水產養殖上使用益生菌可以 (1) 改善養殖環境 (Garriques and Arevalo, 1995; Gatesoupe, 1999)、(2) 促進養殖生物成長 (Tucker and Kennedy, 2001; Wang et al., 2008)、(3) 降低養殖生物疾病之發生 (Kesarcodi-Watson et al., 2008; Wang et al., 2008)、(4) 增加抗病能力 (Nayak, 2010; Swapna et al., 2015)、(5) 減低死亡率 (Gobi et al., 2016; Gobi et al., 2018) 及 (6) 減少抗生素的濫用 (Promnuan and Kiriratnikom, 2018; Qin et al., 2020)。

## (二) 合益素

益生菌是定義為非消化性的食物原料，此類原料可選擇性的刺激體內益生菌的生長，調節免疫，進而促進宿主健康；益生菌主要是非消化性的碳水化合物，包括寡糖及聚糖等 (Gibson and Roberfroid, 1995)。Nácher-Vázquez 等 (2015) 報導，葡聚糖具有抑制虹鱔的傳染性胰壞死病毒 (infectious pancreatic necrosis virus, IPNV) 及傳染性造血器官壞死病毒 (infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV) 的作用，餵食虹鱔予 *Lactobacillus sakei* MN1 所

產的葡聚糖，可以顯著降低虹鱔受 IPNV 及 IHNV 感染後的死亡率。此外，餵食鯉魚 (*Cyprinus carpio*) 添加葡聚糖的飼料，試驗組魚隻的成長明顯佳於對照組 (Jaber and Masoumeh, 2017)。

一般合益素為結合使用益生菌及益生菌，牙鯪 (*Paralichthys olivaceus*) 飼餵含寡糖 (甘露寡糖、果寡糖) 及益生菌 *Bacillus clausii* 飼料後，發現二者對於成長及抗病力有加乘的效用 (Ye et al., 2011)。飼料中添加果寡糖及枯草桿菌 (*B. subtilis*) 不只提升大黃魚 (*Larimichthys crocea*) 的成長及飼料利用情形，也提高疾病抵抗力 (Ai et al., 2011)。而飼料中適量幾丁聚糖及 *B. subtilis* 的添加，明顯提升海鱸 (*Rachycentron canadum*) 生長及抵抗病菌感染的能力 (Geng et al., 2011)。飼料添加商業的合益素可增加虹鱔 (*Oncorhynchus mykiss*) 成長、活存率、血清總蛋白及白蛋白等，並能提升飼料效率 (feed efficiency, FE) (Mehrabi et al., 2012)。牙鯪飼食含有 *Bacillus* spp. +  $\beta$ -gluco-oligosaccharides 飼料，對於成長及抗病力有加乘的效用 (Hasan et al., 2018)。鯉魚 (*Carassius auratus* var. Pengze) 飼食添加 *B. subtilis* +  $\beta$ -glucan 飼料，有助於提升魚隻成長、腸道中消化酵素活性、魚隻肉片的品質及血液中多項免疫指標 (Cao et al., 2019)。白蝦投餵添加芽孢桿菌與作為益生菌之蜂蜜飼料，其增重率 (percent weight gain, PWG)、澱粉酶、蛋白酶及脂肪酶顯著高於對照組 (Hasyimi et al., 2020)。白蝦飼食添加植物乳

酸桿菌 (*Lactobacillus plantarum*) 及可可果膠飼料，有助於提升白蝦飼料效率、增重率、免疫指標及抵抗弧菌之能力 (Kuo et al., 2021)。添加戊糖片球菌 (*Pediococcus pentosaceus*) 及低聚果糖於白蝦飼料中，投餵後，試驗組白蝦之增重率、比生長率、免疫指標及抵抗弧菌之能力顯著高於對照組 (Hong et al., 2022)。

### 三、篩選水產生物的功能性益生菌

#### (一) 抗水產病原弧菌之益生菌

本所朱等 (2016) 自白蝦分離出來的短小芽孢桿菌 D5 (*Bacillus pumilus* D5) (圖 1)，為水產病原弧菌之拮抗菌 (圖 2、3)，具有抑制溶藻弧菌、腸炎弧菌、哈維氏弧菌、鰻弧菌 (*V. anguillarum*)、霍亂弧菌 (*V. cholerae*) 及創傷弧菌 (*V. vulnificus*) 等 6 種常見水產病原弧菌之能力 (表 1)，研究文獻上，該菌為益生菌；此外，*B. pumilus* D5 對於鏈球菌 (*Streptococcus* spp.) 及奴卡氏菌 (*Nocardia seriolae*) 等常見水產病原菌也具有強力的抑制作用；另，為了避免抵抗抗生素的基因經由質體或基因成分轉移到其他細菌，導致具有抗藥性的菌株出現，因此，近幾年來，建議使用的益生菌應該以比較不具抗生素抗性的菌種為宜 (Saarela et al., 2000; EFSA, 2012)。*B. pumilus* D5 對於所測試的 15 種抗生素，其中有 14 種抗生素皆呈現敏感性，符合建議使用的益生菌應該以比較不具抗生素抗性的菌種為宜之規範。

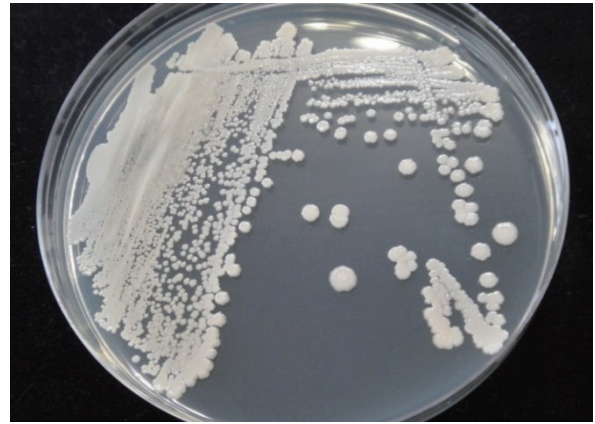


圖 1 分離自白蝦的 *Bacillus pumilus* D5 菌株於胰蛋白大豆瓊脂培養基 28°C 培養 48 小時之菌落

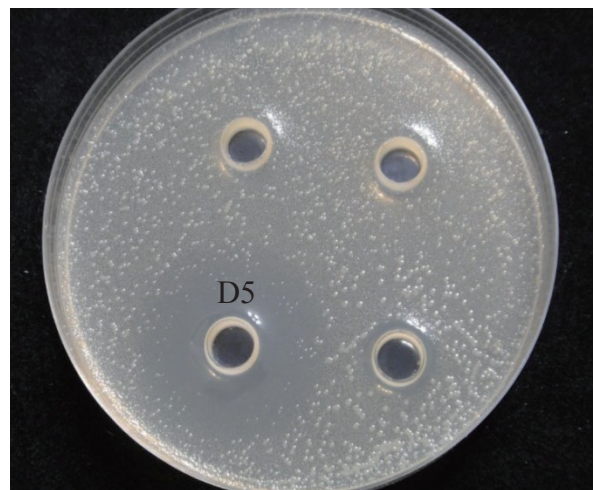


圖 2 *Bacillus pumilus* D5 菌株對腸炎弧菌之抑制情形(3 mm)

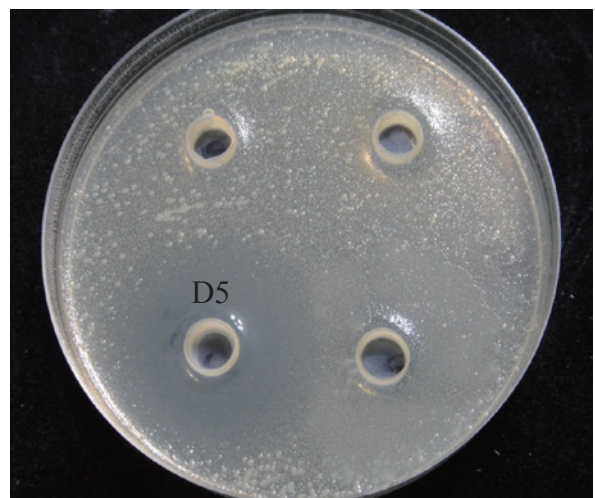


圖 3 *Bacillus pumilus* D5 菌株對哈維氏弧菌之抑制情形(5 mm)





表 1 *Bacillus pumilus* D5 菌株對不同水產病原弧菌、大腸桿菌及鼠傷寒沙門氏菌之抑菌情形

指 標	菌 株	抑菌圈直徑 (mm)
弧 菌( <i>Vibrio</i> spp.)		
溶藻弧菌 ( <i>Vibrio alginolyticus</i> )		1.0
鰻弧菌( <i>V. anguillarum</i> )		3.0
霍亂弧菌( <i>V. cholerae</i> )		4.0
哈維氏弧菌( <i>V. harveyi</i> )		5.0
腸炎弧菌( <i>V. parahaemolyticus</i> )		3.0
溶蛋白弧菌 ( <i>V. proteolyticus</i> )		0
創傷弧菌( <i>V. vulnificus</i> )		3.0
大腸桿菌( <i>Escherichia</i> spp.)		
大腸桿菌( <i>Escherichia coli</i> BCRC 11549)		3.0
大腸桿菌( <i>E. coli</i> BCRC 11634)		3.0
沙門氏桿菌( <i>Salmonella</i> spp.)		
鼠傷寒沙門氏菌( <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028)		2.0

添加對弧菌具拮抗作用的 *B. pumilus* D5 於飼料中 ( $10^7$  CFU/g) 餵食白蝦 8 週；結果顯示，*B. pumilus* D5 具有降低白蝦之缸內水與肝胰腺之弧菌數，提升白蝦之免疫反應及抗腸炎弧菌感染之功能 (圖 4，黃等，2016)。黃等 (2022a) 證實，*B. pumilus* D5 會產生抗菌物質，抑制水產病原弧菌及鏈球菌。

## (二) 產生益生菌之益生菌

現今市場應用較廣泛之益生菌的來源，主要萃取自動植物或由酵素合成，取得之步驟繁瑣，因此價格高昂，雖然作為養殖生物的益生菌之功效良好，因價位偏高，推廣不易。

本所黃等 (2017) 自鱸魚 (*Micropterus salmoides*) 腸道篩選出乳酸菌腸膜明串珠菌 B4 (*Leuconostoc mesenteroides* B4)，文獻上該菌為益生菌，在培養基中有蔗糖的條件下，會產生葡聚糖 (圖 5)；*L. mesenteroides* B4 菌株在所測試的 15 種抗生素中，對 4 種抗生素具有抵抗能力，對其他 11 種抗生素均有敏感性，該菌對於不同抗生素抵抗的種

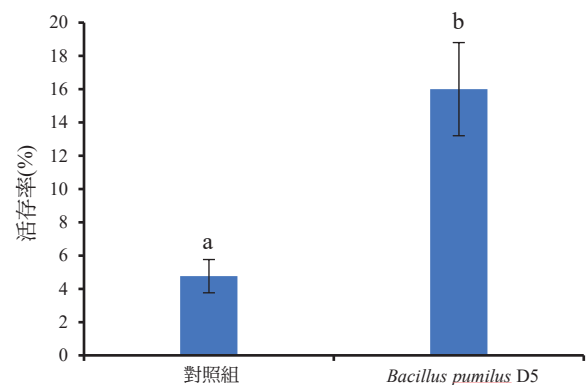


圖 4 白蝦在餵飼(1)對照組、(2)添加 *B. pumilus* D5 ( $10^7$  CFU/g)之飼料 8 週，以腸炎弧菌攻擊後之活存率

類之比例 (4/15) 低於文獻所報導的 *L. mesenteroides* (14/21 及 4/10)，比較符合建議使用的益生菌應該以比較不具抗生素抗性的菌種為宜之規範。

黃等 (2018) 以點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 餵飼添加 *L. mesenteroides* B4 及其葡聚糖產物的飼料，有助於提升石斑魚的成長 (表 2)。又，*L. mesenteroides* B4 及其葡聚糖之產物有助於降低石斑魚腸道之弧菌數、提升免疫反應及提高石斑魚在哈維氏弧菌攻擊後之活存率 (圖 6，黃等，2019)。

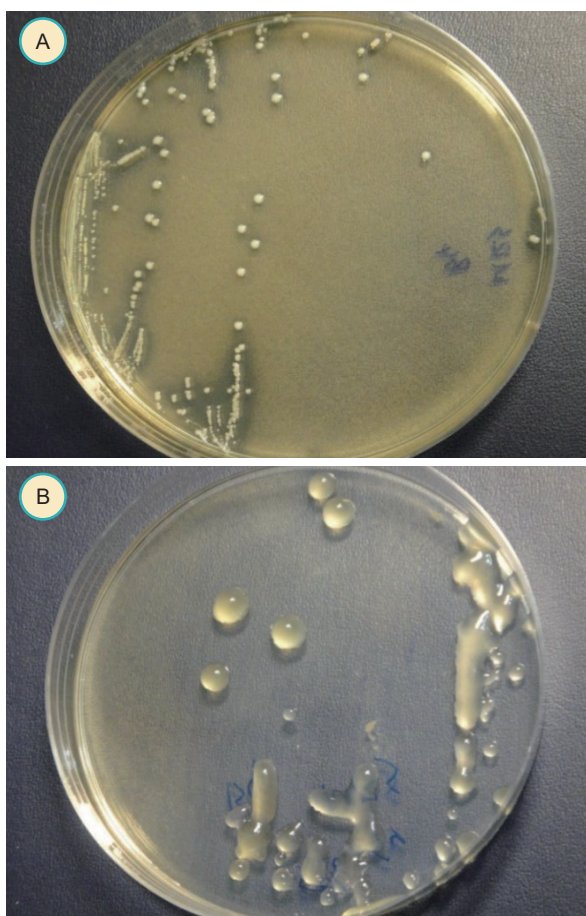


圖 5 A：分離及純化自美洲大口鱸魚腸道之 *L. mesenteroides* B4 菌株生長在未含蔗糖的培養基之菌落。B： *L. mesenteroides* B4 菌株生長在含有 12% 蔗糖(W/W)之蔗糖培養基時產生葡聚糖，菌落具有黏液狀外觀

黃等自行研發成本低廉的 *L. mesenteroides* B4 與其葡聚糖產物優格應用於水產養殖，具有預防水產動物生病及提升成長效果，該技術申請「一種用於預防水產動物受病原體感染富含合益素及適口性佳之飼料添加物」，2022 年已獲智慧財產局核發之專利證書（黃等，2022b）。Huang 等（2023）報導，飼料中添加 *L. mesenteroides* B4 及其葡聚糖之產物優格，有助於增加白蝦成長及提高白蝦在腸炎弧菌攻擊後之活存率（表 3、圖 7）。

在吳郭魚田間試驗顯示，飼料中添加 1% *L. mesenteroides* B4 及其葡聚糖產物優格餵食吳郭魚 2 個月，有助於提升魚隻成長及健康情形，縮短養殖時間 1 個月，有效降低養殖成本及減少疾病侵襲風險（黃等，2024）。

本所最新研究顯示，飼料中合併添加 *L. mesenteroides* B4 與其葡聚糖之產物優格及 *B. pumilus* D5，餵食時間自 8 週縮短為 4 週，就可以有效提高白蝦在腸炎弧菌攻擊後之活存率（Huang et al., 2024）。

表 2 點帶石斑(*Epinephelus coioides*)分別餵飼(1)對照組、(2)添加異麥芽寡糖(0.15%)、(3)添加 *Leuconostoc mesenteroides* B4 ( $10^7$  CFU/g)、(4)添加 *L. mesenteroides* B4 ( $10^7$  CFU/g) + 異麥芽寡糖(0.15%)及(5)添加 *L. mesenteroides* B4 ( $10^7$  CFU/g) + 葡聚糖(0.15%) 8 週之體重、增重率及飼料效率( $p < 0.05$ )

	組 別				
	對 照 組	異麥芽寡糖	<i>L. mesenteroides</i> B4	<i>L. mesenteroides</i> B4 + 異麥芽寡糖	<i>L. mesenteroides</i> B4 + 葡聚糖
初始均重(g)	14.90±0.02 <sup>a</sup>	14.96±0.09 <sup>a</sup>	14.93±0.05 <sup>a</sup>	14.89±0.05 <sup>a</sup>	14.93 ± 0.01 <sup>a</sup>
收成均重(g)	42.78±0.74 <sup>a</sup>	43.21±0.56 <sup>a</sup>	44.13±0.30 <sup>b</sup>	44.74±0.35 <sup>b</sup>	43.98 ± 0.55 <sup>b</sup>
增重率 <sup>1</sup>	187.10±4.77 <sup>a</sup>	188.77±4.31 <sup>a</sup>	195.53±0.92 <sup>b</sup>	200.58±2.40 <sup>b</sup>	194.55 ± 3.08 <sup>ab</sup>
飼料效率 <sup>2</sup>	0.89±0.09 <sup>a</sup>	0.92±0.14 <sup>a</sup>	0.93±0.11 <sup>a</sup>	0.95±0.09 <sup>a</sup>	0.95 ± 0.02 <sup>a</sup>

<sup>1</sup> 增重率(PWG)：Percent weight gain

<sup>2</sup> 飼料效率(FE)：Feed efficiency



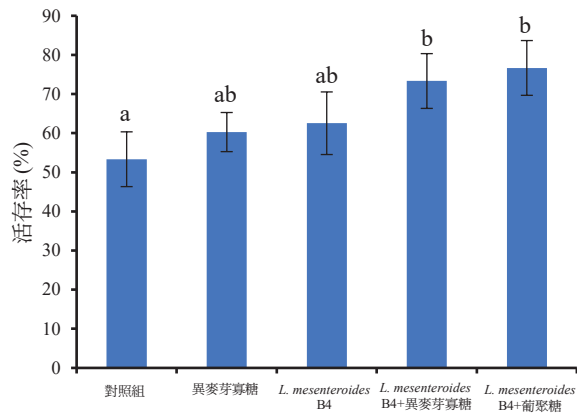


圖 6 點帶石斑分別飼(1)對照組、(2)添加異麥芽寡糖 (0.15%)、(3)添加 *Leuconostoc mesenteroides* B4 ( $10^7$  CFU/g)、(4)添加 *L. mesenteroides* B4 ( $10^7$  CFU/g) + 異麥芽寡糖 (0.15%) 及(5)添加 *L. mesenteroides* B4 ( $10^7$  CFU/g) + 葡聚糖(0.15%)飼料 8 週,以哈維氏弧菌攻擊後之存活率

表 3 白蝦(*Penaeus vannamei*)分別飼飼對照組、含 *L. mesenteroides* B4 ( $10^7$  CFU/g) + 葡聚糖 (0.05%)優格之飼料 8 週的成長表現

	組 別	
	對照組	<i>L. mesenteroides</i> B4 + 葡聚糖
初始均重(g)	2.30±0.06	2.27±0.05
收成均重(g)	20.84±1.62	21.41±1.49
飼料效率	0.83±0.07	0.86±0.07*
增重率(%)	806.62±5.73	843.37±3.01*

\* 生物統計上試驗組與對照組有顯著差異 ( $p < 0.05$ )

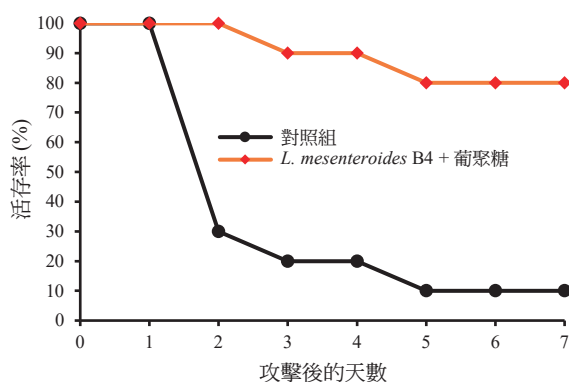


圖 7 白蝦分別飼飼對照組、含 *L. mesenteroides* B4 ( $10^7$  CFU/g) + 葡聚糖(0.05%)優格飼料 8 週,以腸炎弧菌攻擊後之存活率

## 四、益健飼料中益生菌活性評估

雖然水產業者大都肯定益生菌之功效,但是,目前商業益生菌商品種類繁多,品質良莠不齊,菌種特性不一,益生菌生物特性迥異,飼料加工過程有特殊加熱及加壓過程,導致益生菌容易死亡,因此益生菌添加於飼料的方法、保存方式、期限各自不同,導致大型飼料廠無意願修改製程生產大量添加益生菌的益健飼料,多年來水產益生菌的產業推廣只靠個體養殖戶在投餵飼料前添加,不僅費時、費工,亦大幅限縮了技術擴散的成效。

本文將應用本所研發具有抗水產病原菌與增強成長及免疫能力的益生菌 + 維生素,組合成多功能複合微生物製劑,適當應用於各種水產飼料製程,建立不同機能益生菌添加到益健飼料的最適製程。

### (一) 以打粒方式製做益健飼料

2022 年本所開發益生菌飼料的調製方法,並尋求民間協力飼料廠研製含 *B. pumilus* D5 之益健飼料,目前完成升福生物科技有限公司 (吳郭魚飼料)、泰山企業股份有限公司 (虱目魚及吳郭魚飼料)、源益飼料股份有限公司 (烏魚飼料) 及協益飼料股份有限公司 (吳郭魚飼料) 等 4 家,以打粒方式製做含 *B. pumilus* D5 的飼料 (表 4),以每噸飼料 1 kg 的 *B. pumilus* D5 ( $10^{10}$  CFU/g, 博堯生物技術股份有限公司生產) 比例添加,飼料中 *B. pumilus* D5 理論菌數為  $10^7$  CFU/g,製做吳郭魚、虱目魚、烏魚等共 3 種含 *B. pumilus* D5 的飼料,分析計 45 批次

飼料樣品中 *B. pumilus* D5 的菌數。

結果顯示，升福生物科技有限公司的吳郭魚飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數為  $1.93 - 3.40 \times 10^6$  CFU/g (表 4)。泰山企業股份有限公司的虱目魚及吳郭魚飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數分別為  $5.10 \times 10^6$  及  $4.55 - 7.20 \times 10^6$  CFU/g。源益飼料股份有限公司的烏魚飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數為  $5.85 - 7.10 \times 10^6$  CFU/g。協益飼料股份有限公司的吳郭魚飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數為  $1.01 - 7.40 \times 10^6$  CFU/g。可見各家飼料公司所製做之飼料，包括吳郭魚、虱目魚、烏魚等益健飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數均為  $10^6$  CFU/g 以上的理想範圍內。

## (二) 以後包覆方式製做益健飼料

另在德亨工業股份有限公司以預先乳化益生菌再後包覆及打粒方式製做益健飼

料，配製含 *B. pumilus* D5 + *L. mesenteroides* B4 + 葡聚糖的優格之多種浮性飼料，包括鱸魚、午仔魚、斑節蝦及草蝦飼料 (表 4)。益生菌之添加比例為每噸飼料添加  $0.44 - 0.55$  kg 的 *B. pumilus* D5 ( $10^{10}$  CFU/g，博堯生物技術股份有限公司生產)，飼料中 *B. pumilus* D5 理論菌數為  $10^7$  CFU/g，每噸飼料添加 10 kg 的 *L. mesenteroides* B4 發酵後之優格 ( $10^9$  CFU/g) 之比例，飼料中 *L. mesenteroides* B4 理論菌數為  $10^7$  CFU/g。

分析德亨工業股份有限公司所生產的鱸魚 (36 批次)、午仔魚 (12 批次)、斑節蝦 (18 批次) 及草蝦 (3 批次) 飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數分別為  $1.99 - 8.00 \times 10^6$ 、 $7.80 - 9.60 \times 10^6$ 、 $1.12 - 5.20 \times 10^6$  及  $2.10 - 3.90 \times 10^6$  CFU/g (表 4)；而 *L. mesenteroides* B4 的菌數均低於檢測極限 (<

表 4 目前含有 *B. pumilus* D5 益健飼料種類、數量及飼料中 *B. pumilus* D5 菌數與儲藏期間菌數變化

飼料廠	飼料種類	益生菌添加方式	益生菌添加比例(%)	分析批次	菌數 (CFU/g)	50°C儲藏 3 個月之菌數(CFU/g)	養殖現場儲藏之菌數(CFU/g)
升 福	吳郭魚	打 粒	0.10	6	$1.93-3.40 \times 10^6$	$3.05-8.89 \times 10^5$	$1.56-2.85 \times 10^6$ (3 天)
泰 山	虱目魚	打 粒	0.10	1	$5.10 \times 10^6$	$2.30 \times 10^6$	$7.20 \times 10^6$ (5 個月)
	吳郭魚	打 粒	0.10	8	$4.55-7.20 \times 10^6$	$2.10-5.50 \times 10^6$	$5.21-6.05 \times 10^6$ (65 天)
源 益	烏 魚	打 粒	0.10	2	$5.85-7.10 \times 10^6$	$1.70-2.41 \times 10^6$	$9.80 \times 10^6$ (43 天)
協 益	吳郭魚	打 粒	0.10	28	$1.01-7.40 \times 10^6$	$2.25-4.51 \times 10^6$	-
德 亨	鱸 魚	後包覆	0.044-0.055	36	$1.99-8.00 \times 10^6$	$1.15-2.20 \times 10^6$	-
	午仔魚	後包覆	0.044-0.055	12	$7.80-9.60 \times 10^6$	-	-
	斑節蝦	打 粒	0.044-0.055	18	$1.12-5.20 \times 10^6$	-	-
	草 蝦	打 粒	0.044-0.055	3	$2.10-3.90 \times 10^6$	-	-
福 壽	吳郭魚	後包覆	0.10	2	$3.60-8.80 \times 10^6$	$3.14-4.90 \times 10^6$	$3.21-5.30 \times 10^6$ (30 天)
合 計	7 種	2 種		116			

-：未檢測





$1.00 \times 10^1$  CFU/g)；用後包覆及打粒方式所製做之鱸魚、午仔魚、斑節蝦及草蝦飼料中 *B. pumilus* D5 均維持在  $10^6$  CFU/g；但是 *L. mesenteroides* B4 菌數均低於檢測極限。

福壽實業股份有限公司以該公司原有之後包覆方式，於飼料製程造粒冷卻乾燥後(約  $50-60^\circ\text{C}$ )，將 *B. pumilus* D5 以噴方式包覆於水產飼料，製做含 *B. pumilus* D5 之的吳郭魚浮性飼料，每噸飼料添加 1 kg 之 *B. pumilus* D5 ( $10^{10}$  CFU/g，博堯生物技術股份有限公司生產) 之比例，飼料中之 *B. pumilus* D5 理論菌數為  $10^7$  CFU/g，實際分析 2 批次的福壽實業股份有限公司所生產之吳郭魚浮性飼料，*B. pumilus* D5 的菌數維持在  $3.60-8.80 \times 10^6$  CFU/g。

### (三) 儲藏期間，益健飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數變化

監測打粒方式製做的益健飼料在儲藏期間的菌數變化，結果顯示，含 *B. pumilus* D5 的飼料於  $50^\circ\text{C}$  儲藏 3 個月，升福生物科技有限公司所生產的吳郭魚飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數從  $1.93-3.40 \times 10^6$  CFU/g 降為  $3.05-8.89 \times 10^5$  CFU/g (表 4)，泰山企業股份有限公司的虱目魚及吳郭魚飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數分別從  $5.10 \times 10^6$  CFU/g 及  $4.55-7.20 \times 10^6$  CFU/g 降為  $2.30 \times 10^6$  及  $2.10-5.50 \times 10^6$  CFU/g。源益飼料股份有限公司的烏魚飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數從  $5.85-7.10 \times 10^6$  CFU/g 降為  $1.70-2.41 \times 10^6$  CFU/g。協益飼料股份有限公司的吳郭魚飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數從  $1.01-7.40 \times 10^6$  CFU/g 降為  $2.25-4.51 \times$

$10^6$  CFU/g。

有關用後包覆方式製做的益健飼料儲藏期間，*B. pumilus* D5 的菌數變化，分析數據顯示，德亨工業股份有限公司所生產鱸魚含 *B. pumilus* D5 的飼料，於  $50^\circ\text{C}$  儲藏 3 個月，飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數從  $1.99-8.00 \times 10^6$  CFU/g 降為  $1.15-2.20 \times 10^6$  (表 4)。福壽實業股份有限公司含 *B. pumilus* D5 的吳郭魚浮性飼料於  $50^\circ\text{C}$  儲藏 3 個月，飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數從  $3.60-8.80 \times 10^6$  CFU/g 降為  $3.14-4.90 \times 10^6$  CFU/g。

依上述分析數據顯示，不論以打粒或後包覆方式製做的益健飼料，經過  $50^\circ\text{C}$  儲藏 3 個月後，除了原本 *B. pumilus* D5 的菌數就較低的升福生物科技有限公司所生產的吳郭魚飼料，其 *B. pumilus* D5 的菌數從  $10^6$  CFU/g 降為  $10^5$  CFU/g 之外，其餘的都能維持在原來理想的  $10^6$  CFU/g 範圍內。因此， $50^\circ\text{C}$ 、3 個月條件下，推測對於飼料中 *B. pumilus* D5 之活性影響不大。

此外，也檢測益健飼料在養殖現場，儲藏期間之 *B. pumilus* D5 的菌數，升福生物科技有限公司製做含 *B. pumilus* D5 的 2 批吳郭魚飼料，在養殖現場的戶外密封之儲料桶 (最高溫為  $42.6^\circ\text{C}$ ) 儲藏 3 天後，*B. pumilus* D5 的菌數仍維持在  $1.56-2.85 \times 10^6$  CFU/g (表 4)；泰山企業股份有限公司製做含 *B. pumilus* D5 的打粒虱目魚飼料，飼料在養殖現場 (最高溫為  $37.9^\circ\text{C}$ ) 儲藏 5 個月後，飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數維持在  $7.20 \times 10^6$  CFU/g；泰山企業股份有限公司製做含 *B. pumilus* D5 的打粒吳郭魚，2 批飼

料在養殖現場（最高溫為 41.0°C）儲藏 65 天後，飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數為  $5.21 - 6.05 \times 10^6$  CFU/g；福壽實業股份有限公司製做含 *B. pumilus* D5 浮性吳郭魚飼料，2 批飼料在養殖現場（最高溫為 37.0°C）儲藏 30 天後，飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數維持在  $3.21 - 5.30 \times 10^6$  CFU/g。

## 五、益健飼料中益生菌活性探討

Warth (1978) 報導，芽孢桿菌 (*Bacillus* spp.) 生長溫度為 31–76°C，孢子型態之芽孢桿菌在 75–121°C 之範圍內，10 分鐘會使孢子活性下降 1 個對數值。Ruiz 等 (2002) 指出，*B. pumilus* 在 104°C 下降 1 個對數值所需時間為 1.9 分鐘，顯示有優異之熱耐受性。Berendsen 等 (2015) 指出，*B. subtilis* 在 120°C 下降 1 個對數值所需時間為 0.33–45.7 秒。Setlow 等 (2006) 指出，孢子型態的 *B. subtilis* 在 90°C（濕熱滅菌）可活存 18 分鐘，而繁殖體在 1 分鐘內死亡。

以打粒方式製做益健飼料之廠商生產益健飼料時，其加熱製程為 75–90°C，5 分鐘以下，製做配方為每噸飼料添加 1 kg 的 *B. pumilus* D5，飼料中 *B. pumilus* D5 理論菌數為  $10^7$  CFU/g，而實際檢測飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數均維持在  $10^6$  CFU/g。該加熱製程（75–90°C，5 分鐘以下）之加熱處理的溫度及時間，較低於上述文獻中的高溫及處理時間，推測此條件對於 *B. pumilus* D5 之活性影響不大，因此 *B. pumilus* D5 的

菌數均維持在  $10^6$  CFU/g。

福壽實業股份有限公司以原有後包覆技術製做益健飼料，於飼料製程造粒冷卻乾燥後（約 50–60°C），再以後噴方式包覆於水產飼料；益生菌之添加比例為每噸飼料添加 1 kg 的 *B. pumilus* D5，飼料中 *B. pumilus* D5 理論菌數為  $10^7$  CFU/g，實際檢測飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數均維持在  $10^6$  CFU/g。

德亨工業股份有限公司以預先乳化益生菌再後包覆方式製做益健飼料，於飼料製程造粒冷卻乾燥後（約 50–60°C），再以後噴方式包覆於水產飼料；益生菌之添加比例為每噸飼料添加 0.44–0.55 kg 的 *B. pumilus* D5，飼料中 *B. pumilus* D5 理論菌數為  $10^7$  CFU/g，實際檢測飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數均維持在  $10^6$  CFU/g；相較於打粒方式，飼料添加 1 kg 的 *B. pumilus* D5（每噸飼料添加 1 kg 的 *B. pumilus* D5），後包覆方式製做益健飼料（每噸飼料添加 0.44–0.55 kg 的 *B. pumilus* D5），飼料添加 *B. pumilus* D5 約為打粒方式的 1/2，產品飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數仍可以維持在  $10^6$  CFU/g，因此用後包覆方式製做益健飼料可以節省益生菌之添加量，降低益生菌之添加成本，具有較高之經濟效益。

黃等 (2016) 研究顯示，白蝦飼料含有 *B. pumilus* D5 的飼料 10 天後，在白蝦的肝胰腺就可以檢測到 *B. pumilus* D5；田間試驗也顯示，吳郭魚飼料含有 *B. pumilus* D5 的飼料後，在吳郭魚的腸道也有檢測到 *B. pumilus* D5（未發表）；因此推測 *B. pumilus* D5 可以在白蝦的肝胰腺及吳郭魚的腸道定





殖；又，由於 *B. pumilus* D5 會產生抗菌物質 (黃等, 2022a)，抑制水產病原弧菌及多種病原菌，因此，益健飼料中含有  $10^6$  CFU/g 之 *B. pumilus* D5，應該可以加強 *B. pumilus* D5 在魚的腸道及蝦的肝胰腺定殖，產生足量的抗菌物質，抑制水產病原菌，增強水產生物抵抗病原菌之能力。

乳酸菌耐受高溫的程度較芽孢桿菌低很多，Christiansen 等 (2006) 報導，乳酸菌 *Lactobacillus paracasei* 在  $60^\circ\text{C}$  下降一個對數值所需時間為 2.4–13.5 分鐘。El-Jeni 等 (2016) 指出，*L. mesenteroides* 可在  $70^\circ\text{C}$  活存 3 分鐘，在  $75^\circ\text{C}$  可活存 1 分鐘。由於 *L. mesenteroides* B4 係分離自鱸魚之腸道 (黃等, 2017)，最適合之生長溫度為  $28^\circ\text{C}$  (未發表)，而一般人體適用之乳酸菌最適溫度  $37^\circ\text{C}$ ，推測 *L. mesenteroides* B4 耐高溫之能力較一般人體適用之乳酸菌為差。Santivarangkna 等 (2007) 指出，飼料儲藏期間，益生菌菌數下降主要原因是由於菌體細胞膜的脂質氧化所造成。

本研究的結果也顯示，用後包覆方式製成含 *B. pumilus* D5 + *L. mesenteroides* B4 + 葡聚糖的優格之魚蝦飼料，*L. mesenteroides* B4 菌數均低於檢測極限 ( $< 1.00 \times 10^1$  CFU/g)。

由於先前將 *L. mesenteroides* B4 添加在飼料中，投餵石斑魚及白蝦後，在魚蝦腸道中檢測到 *L. mesenteroides* B4 的比例均非常低 (黃等, 2018；Huang et al., 2023)，推測 *L. mesenteroides* B4 在魚蝦腸道中不易定殖，不過，*L. mesenteroides* B4 會產生葡聚

糖，葡聚糖具有提升虹鱔抵抗病毒性疾病的能力 (Nácher-Vázquez et al., 2015) 及增加鯉魚成長 (Jaber and Masoumeh, 2017) 之效果；加上本所研發的奶粉特殊營養成分的發酵基質，Park 等 (1994) 指出，發酵乳品的口感好，含有特殊的營養物質，牛奶經過乳酸菌發酵後更容易被人體消化及吸收，此觀點應該也可應用在水產生物，因此推測，經過 *L. mesenteroides* B4 發酵的牛奶—*L. mesenteroides* B4 + 葡聚糖之優格，其特殊的營養物質也有助於水產生物之成長。基於 *L. mesenteroides* B4 在魚蝦腸道中定殖的能力不佳，故而，將 *L. mesenteroides* B4 菌體配合聚糖及具有營養成分的發酵代謝物，達到增強水產動物之生長，並提升對於細菌性疾病的抵抗力之效果。

## 六、結語

應用本所研發具有抗水產病原菌與增強成長及免疫能力的益生菌 + 益生素，組合成多功能複合微生物製劑，適當應用於各種水產飼料製程，不論以打粒或後包覆方式製成的益健飼料，經過  $50^\circ\text{C}$  儲藏試驗 3 個月後，飼料中 *B. pumilus* D5 的菌數都還能維持在原來理想的  $10^6$  CFU/g 範圍內。由於 *L. mesenteroides* B4 耐熱能力不佳，在魚蝦腸道中定殖也弱，因此，將以菌體配合聚糖及具有營養成分的發酵代謝物，達到增強水產動物之生長，並提升對於細菌性疾病的抵抗力之效果。

## 參考文獻

- 朱惠真、黃美瑩、劉旭展、曾亮瑋、潘崇良、張錦宜 (2016) 自海水魚蝦篩選抗水產病原弧菌之拮抗菌。水產研究, 24(1): 37-50。
- 黃美瑩、朱惠真、陳力豪、劉旭展、曾亮瑋、潘崇良、張錦宜 (2016) 飼料中添加益生菌 *Bacillus pumilus* D5 對於白蝦成長、免疫反應及抗腸炎弧菌效率之影響。水產研究, 24(2): 57-69。
- 黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋、許晉榮 (2017) 美洲大嘴鱸腸道中葡聚糖產生菌 (*Leuconostoc mesenteroides* B4) 之篩選。水產研究, 25(2): 23-33。
- 黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋 (2018) 飼料中添加益生菌 *Leuconostoc mesenteroides* B4 及其異麥芽寡糖與葡聚糖產物對於點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 成長之影響。水產研究, 26(2): 1-19。
- 黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋 (2019) 點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 飼料中添加益生菌 *Leuconostoc mesenteroides* B4 及其異麥芽寡糖與葡聚糖產物對於魚隻抵抗病原菌之影響。水產研究, 27(2): 23-39。
- 黃美瑩、朱惠真、廖哲宏、曾福生、林泓廷 (2022a) 水產病原弧菌之拮抗菌-*Bacillus pumilus* D5 抗菌物質之探討。水產研究, 30(2): 15-31。
- 黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋、葉信明、曾福生 (2022b) 「一種用於預防水產動物受病原體感染富含合益素及適口性佳之飼料添加物」, 111 年 3 月 1 日接獲智慧財產局核發之專利證書。發明第 1757012 號。2022 年 3 月 1 日至 2040 年 12 月 24 日止。
- 黃美瑩、曾福生、吳倩慈、林渝翔、楊世杰、葉坤松 (2024) 飼料中添加益生菌 *Leuconostoc mesenteroides* B4 及其葡聚糖之優格對於吳郭魚成長之影響。水產種苗, 310: 5-18。
- Abdel-Aziz, M., A. E. Eissa, M. Hanna and M. A. Okada (2013) Identifying some pathogenic *Vibrio/Photobacterium* species during mass mortalities of cultured gilthead seabream (*Sparus aurata*) and European seabass (*Dicentrarchus labrax*) from some Egyptian coastal provinces. Int. J. Vet. Sci. Med., 1: 87-95. doi: 10.1016/j.ijvsm.2013.10.004
- Ai, Q., H. Xu, K. Mai, W. Xu, J. Wang and W. Zhang (2011) Effects of dietary supplementation of *Bacillus subtilis* and fructooligosaccharide on growth performance, survival, non-specific immune response and disease resistance of juvenile large yellow croaker, *Larimichthys crocea*. Aquaculture, 317: 155-161.
- Berendsen, E. M., M. H. Zwietering, O. P. Kuipers and M. H. Wells-Bennik (2015) Two distinct groups within the *Bacillus subtilis* group display significantly different spore heat resistance properties. Food Microbiol., 45: 18-25.
- Cao, H., R. Yu, Y. Zhang, B. Hu, S. Jian, C. Wen, K. Kajbaf, V. Kumar and G. Yang (2019) Effects of dietary supplementation with  $\beta$ -glucan and *Bacillus subtilis* on growth, fillet quality, immune capacity, and antioxidant status of Pengze crucian carp (*Carassius auratus* var. Pengze). Aquaculture, 508: 106-112.
- Chen, Y. L., R. Kumar, C. H. Liu and H. C. Wang (2021) In *Litopenaeus vannamei*, the cuticular chitin-binding proteins LvDD9A and LvDD9B retard AHPND pathogenesis but facilitate WSSV infection. Dev. Comp. Immunol., 120: 103999, doi: 10.1016/j.dci.2021.103999
- Chen, Y. L., R. Kumar, C. H. Liu and H. C. Wang (2022) *Litopenaeus vannamei* peritrophin interacts with WSSV and AHPND-causing *V. parahaemolyticus* to regulate disease pathogenesis. Fish Shellfish Immunol., 126: 271-282, doi: 10.1016/j.fsi.2022.05.035
- Christiansen, P., E. W. Nielsen, F. K. Vogensen, C. H. Brogren and Y. Ardö (2006) Heat resistance of *Lactobacillus paracasei* isolated from semi-hard cheese made of pasteurised milk. Int. Dairy J., 16(10): 1196-1204.
- Defoirdt, T., N. Boon, P. Sorgeloos, W. Verstraete and P. Bossier (2007) Alternatives to antibiotics to control bacterial infections: luminescent vibriosis in aquaculture as an example. Trends Biotechnol., 25: 472-479.
- EFSA (European Food Safety Authority) (2012) Scientific opinion on guidance on the assessment of bacterial susceptibility to antimicrobials of human and veterinary importance. EFSA J., 10: 2740.
- El-Jeni, R., M. El Bour, P. Calo-Mata, K. Böhme, I. C. Fernández-No, J. Barros-Velázquez and B. Bouhaouala-Zahar (2016) In vitro probiotic profiling of novel *Enterococcus faecium* and *Leuconostoc mesenteroides* from Tunisian freshwater fishes. Can. J. Microbiol., 62(1): 60-71.
- FAO (2020) The state of world fisheries and aquaculture 2020, Sustainability in action. Rome. (2020) doi: 10.4060/ca9229en
- FAO (2022) The State of World Fisheries and Aquaculture 2022. Towards Blue Transformation. Rome, FAO. <https://doi.org/10.4060/cc0461en>
- Garriques, D. and G. Arevalo (1995) An evaluation of the production and use of a live bacterial isolate to manipulate the microbial flora in the commercial production of *Penaeus vannamei* postlarvae in Ecuador. pp. 53-59. In: C. L. Browdy and J. S. Hopkin, editor. Swimming Through Troubled Waters. Proceedings of the Special Session on Shrimp Farming, Aquaculture '95. World Aquaculture Annual Meeting, San Diego, California. 2-6 February, 1995.
- Gatesoupe, F. J. (1999) The use of probiotics in aquaculture. Aquaculture, 180: 147-165.
- Geng, X., X. H. Dong, B. P. Tan, Q. H. Yang, S. Y. Chi, H. Y. Liu and X. Q. Liu (2011) Effects of dietary chitosan and *Bacillus subtilis* on the growth performance, non-specific immunity and disease resistance of cobia, *Rachycentron canadum*. Fish shellfish Immunol., 31: 400-406.





- Gibson, G. R. and M. B. Roberfroid (1995) Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics. *J. Nutr.*, 125: 1401-1412.
- Gobi, N., B. Malaikozhundan, V. Sekar, S. Shanthi, B. Vaseeharan, R. Jayakumar and A. K. Nazar (2016) GFP tagged *Vibrio parahaemolyticus* Ddhv2 infection and the protective effects of the probiotic *Bacillus licheniformis* Ddhb1 on the growth, immune and antioxidant responses in *Pangasius hypophthalmus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 52: 230-238.
- Gobi, N., B. Vaseeharan, J. C. Chen, R. Rekha, S. Vijayakumar, M. Anjugam and A. Iswarya (2018) Dietary supplementation of probiotic *Bacillus licheniformis* Ddhb1 improves growth performance, mucus and serum immune parameters, antioxidant enzyme activity as well as resistance against *Aeromonas hydrophila* in tilapia *Oreochromis mossambicus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 74: 501-508.
- Haldar, S., A. Maharajan, S. Chatterjee, S. A. Hunter, N. Chowdhury, A. Hinenoya, M. Asakura and S. Yamasaki (2010) Identification of *Vibrio harveyi* as a causative bacterium for a tail rot disease of sea bream *Sparus aurata* from research hatchery in Malta. *Microbiol. Res.*, 165: 639-648. doi: 10.1016/j.micres.2009.12.001
- Hasan, M. T., W. J. Jang, H. Kim, B. J. Lee, K. W. Kim, S. W. Hur, S. G. Lim, S. C. Bai and I. S. Kong (2018) Synergistic effects of dietary *Bacillus* sp. SJ-10 plus  $\beta$ -glucan oligosaccharides as a synbiotic on growth performance, innate immunity and streptococcosis resistance in olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Fish Shellfish Immunol.*, 82: 544-553.
- Hasyimi, W., W. Widanarni and M. Yuhana (2020) Growth performance and intestinal microbiota diversity in Pacific White Shrimp *Litopenaeus vannamei* fed with a probiotic bacterium, honey prebiotic, and synbiotic. *Curr. Microbiol.*, 77: 2982-2990.
- Hong, N. T. X., N. T. H. Linh, K. Baruah, D. T. B. Thuy and N. N. Phuoc (2022) The combined use of *Pediococcus pentosaceus* and Fructooligosaccharide improves growth performance, immune response, and resistance of whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei* against *Vibrio parahaemolyticus*. *Front. Microbiol.*, Feb 25; 13: 826151. doi: 10.3389/fmicb.2022.826151. PMID: 35283820; PMCID: PMC8914372.
- Huang, M. Y., L. C. Yi, C. Y. Lai, J. D. Yu and P. T. Lee (2023) Dietary supplementation of synbiotic *Leuconostoc mesenteroides* B4 and dextran improves immune regulation and disease resistance of *Penaeus vannamei* against *Vibrio parahaemolyticus*. *Fish Shellfish Immunol.*, 132: 108498.
- Huang, M. Y., B. N. Truong, T. P. Nguyen, H. J. Ju and P. T. Lee (2024) Synergistic effects of combined probiotics *Bacillus pumilis* D5 and *Leuconostoc mesenteroides* B4 on immune enhancement and disease resistance in *Litopenaeus vannamei*. *Dev. Comp. Immunol.*, 155: 105158.
- Jaber, N. and B. Masoumeh (2017) Effect of diets containing different levels of prebiotic Mito on the growth factors, survival, body composition, and hematological parameters in common carp *Cyprinus Carpio* Fry. *J. Mar. Biol. Aquac.*, 3: 1-6.
- Kahla-Nakbi, A., A. Ben Besbes, A. Bakhrouf and E. Alcaide (2007) Characterisation and virulence properties of *Vibrio* isolates from diseased gilthead sea bream (*Sparus aurata*) cultured in Tunisia. *Bull. Eur. Assoc. Fish Pathol.*, 27: 90-99.
- Karunasagar, I., R. Pai, G. R. Malathi and I. Karunasagar (1994) Mass mortality of *Penaeus monodon* larvae due to antibiotic resistant *Vibrio harveyi* infection. *Aquaculture*, 128: 203-209.
- Kesarcodi-Watson, A., H. Kaspar, M. J. Lategan and L. Gibson (2008) Probiotics in aquaculture: the need, principles and mechanisms of action and screening processes. *Aquaculture*, 274: 1-14.
- Kumar, R., T. C. Tung, T. H. Ng, C. C. Chang, Y. L. Chen, Y. M. Chen, S. S. Lin and H. C. Wang (2021) Metabolic alterations in shrimp stomach during acute hepatopancreatic necrosis disease and effects of taurocholate on *Vibrio parahaemolyticus*. *Front. Microbiol.*, 12: 631468, doi: 10.3389/fmicb.2021.631468
- Kumar, R., M. Y. Huang, C. L. Chen, H. C. Wang and H. P. Lu (2023) Resilience and probiotic interventions to prevent and recover from shrimp gut dysbiosis. *Fish Shellfish Immunol.*, 139: 108886.
- Kuo, H. W., C. C. Chang and W. Cheng (2021) Synbiotic combination of prebiotic, cacao pod husk pectin and probiotic, *Lactobacillus plantarum*, improve the immunocompetence and growth of *Litopenaeus vannamei*. *Fish Shellfish Immunol.*, 118: 333-342.
- Leaño, E. M. and C. V. Mohan (2012) Early mortality syndrome threatens Asia's shrimp farms. *Glob. Aquacult. Advocate*, Jul./Aug., 38-39.
- Lee C. T., I. T. Chen, Y. T. Yang, T. P. Ko, Y. T. Huang, J. Y. Huang, M. F. Huang, S. J. Lin, C. Y. Chen, S. S. Lin, D. V. Lightner, H. C. Wang, A. H. Wang, H. C. Wang, L. I. Hor and C. F. Lo (2015) The opportunistic marine pathogen *Vibrio parahaemolyticus* becomes virulent by acquiring a plasmid that expresses a deadly toxin. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 112(34): 10798-10803.
- Mehrabi, Z., F. Firouz bakhsh and A. Jafarpour (2012) Effects of dietary supplementation of synbiotic on growth performance, serum biochemical parameters and carcass composition in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fingerlings. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr.*, 96: 474-481.
- Nácher-Vázquez, M., N. Ballesteros, Á. Canales, S. R. Saint-Jean, S. I. Pérez-Prieto, A. Prieto, R. Aznar and P. López (2015) Dextran produced by lactic acid bacteria exhibit antiviral and immunomodulatory activity against salmonid viruses. *Carbohydr. Polym.*, 124: 292-301.

- Nayak, S. K. (2010) Probiotics and immunity: A fish perspective. *Fish Shellfish Immunol.*, 29: 2-14.
- Park, Y. (1994) Nutrient and mineral composition of commercial US goat milk yogurts. *Small Rumin. Res.*, 13: 63-70.
- Prachumwat, A., S. Taengchaiyaphum, N. Mungkongwongsiri, D. J. Aldama-Cano, T. W. Flegel and K. Sritunyaluksana (2019) Update on early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis disease by April 2018. *J. World Aquac. Soc.*, 50: 5-17.
- Promnuan, K. and S. Kiriratnikom (2018) Effect of different levels of *Bacillus licheniformis* supplements in diets on growth performance, feed utilization and intestinal bacteria of hybrid red tilapia. *Thaksin Univ. J.*, 21(2): 43-50.
- Qin, L., J. Xiang, F. Xiong, G. Wang, H. Zou, W. Li, M. Li and S. Wu (2020) Effects of *Bacillus licheniformis* on the growth, antioxidant capacity, intestinal barrier and disease resistance of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Fish Shellfish Immunol.*, 97: 344-350.
- Ringø, E. (2020) Probiotics in shellfish aquaculture. *Aquac. Fish.*, 5: 1-27. doi: 10.1016/j.aaf.2019.12.001
- Ruiz, P., M. J. Ocio, F. Cardona, A. Fernández, M. Rodrigo and A. Martínez (2002) Nature of the inactivation curves of *Bacillus pumilus* spores heated using non-isothermal and isothermal treatments. *J. Food Sci.*, 67(2): 776-779.
- Saarela, M., G. Mogensen, R. Fonden, J. Matto and T. Mattila-Sandholm (2000) Probiotic bacteria: Safety, functional and technological properties. *J. Biotechnol.*, 84: 197-215.
- Sanches-Fernandes, G. M. M., I. Sá-Correia and R. Costa (2022) Vibriosis outbreaks in aquaculture: addressing environmental and public health concerns and preventive therapies using gilthead seabream farming as a model system. *Front. Microbiol.*, 13: 904815. doi: 10.3389/fmicb.2022.904815
- Santivarangkna, C., U. Kulozik and P. Foerst (2007) Alternative drying processes for the industrial preservation of lactic acid starter cultures. *Biotechnol. Progr.*, 23: 302-315.
- Saulnier, D. S., J. C. Avarre, G. Le Moullac, D. Ansquer, P. Levy and V. Vonau (2000) Rapid and sensitive PCR detection of *Vibrio penaeicida*, the putative etiological agent of Syndrome 93 in New Caledonia. *Dis. Aquat. Org.*, 40: 109-115.
- Schwarz, S., C. Kehrenberg and T. R. Walsh (2001) Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *Int. J. Antimicrob. Ag.*, 17: 431-437.
- Setlow, P. (2006) Spores of *Bacillus subtilis*: their resistance to and killing by radiation, heat and chemicals. *J. Appl. Microbiol.*, 101(3): 514-525.
- Shinn A. P., J. Pratoomyot, D. Griffiths, T. Q. Trong, N. T. Vu, P. Jiravanichpaisal and M. Briggs (2018) Asian shrimp production and economic costs of disease. *Asian Fish. Sci.*, 31S: 29-58.
- Swapna, B., C. Venkatrayulu and A. V. Swathi (2015) Effect of probiotic bacteria *Bacillus licheniformis* and *Lactobacillus rhamnosus* on growth of the Pacific white shrimp *Litopenaeus vannamei* (Boone, 1931). *Eur. J. Exp. Biol.*, 5(11): 31-36.
- Tran, L., L. Nunan, R. M. Redman, L. L. Mohny, C. R. Pantoja, K. Fitzsimmons and D. V. Lightner (2013) Determination of the infectious nature of the agent of acute hepatopancreatic necrosis syndrome affecting penaeid shrimp. *Dis. Aquat. Org.*, 105: 45-55.
- Tucker, J. W. Jr and S. Kennedy (2001) Snook culture. *Aquaculture 2001, Book of abstract.* p. 651. World Aquaculture Society, USA.
- Wang, Y. B., Z. Q. Tian, J. T. Yao and W. F. Li (2008) Effect of probiotics, *Enterococcus faecium*, on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. *Aquaculture*, 277: 203-207.
- Warth, A. D. (1978) Relationship between the heat resistance of spores and the optimum and maximum growth temperatures of *Bacillus* species. *J. Bacteriol.*, 134(3): 699-705.
- Ye, J. D., K. Wang, F. D. Li and Y. Z. Sun (2011) Single or combined effects of fructo- and mannan oligosaccharide supplements and *Bacillus clausii* on the growth, feed utilization, body composition, digestive enzyme activity, innate immune response and lipid metabolism of the Japanese flounder *Paralichthys olivaceus*. *Aquacult. Nutr.*, 17: 902-911.



# 海水經濟魚蝦益健飼料的運用與驗證

周瑞良<sup>1</sup>、周芷儀<sup>1</sup>、劉佩玟<sup>2</sup>、鄭世榮<sup>1</sup>、陳盈達<sup>1</sup>、吳豐成<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 農業部水產試驗所東港養殖研究中心

<sup>2</sup> 農業部水產試驗所淡水養殖研究中心

## 摘要

為了解決水產養殖中因高密度飼養和高頻率投餵所引起的腸炎和抗生素濫用問題，因而開發含有益生菌 (probiotics) 和益生素 (prebiotics) 的多功能複合微生物益健飼料，並應用於白蝦 (*Penaeus vannamei*) 和午仔魚 (*Eleutheronema tetradactylum*)。本研究採用後包覆技術，將益生菌和益生素溶於水中，加入魚油及親水性和親油性乳化劑進行多重乳化 (O/W/O)，以保護益生菌在飼料中的活性。此外，本研究與養殖業者合作進行益健飼料田間驗證，結果顯示，白蝦驗證場域，益健飼料組平均活存率為 92.9%、每分地收益新臺幣 32.96 萬元，對照組則為 69.95% 以及 3.3 萬元；午仔魚驗證場域，益健飼料組平均活存率 83.02%、每分地收益 27.11 萬元，對照組則為 46.03% 以及 6.96 萬元，益健飼料可促進養殖動物健康，減少罹病次數與提高生產性能。

## 一、前言

養殖戶為提高產值，放養密度越來越高，為了縮短養殖時間密集投餌，腸道壓力大，導致腸炎好發，通常將抗生素拌合飼料投餵治療，藥物濫用情形嚴重，有些養殖戶未遵守停藥期規定，上市產品藥物殘留時有檢出，影響消費者信心。抗生素雖可以抑制病原菌防止疾病產生，然而過度廣泛的使用，會造成耐藥菌株的產生與二次感染等問題，抗生素殘留問題已經受到國際社會普遍的關注與擔憂。歐盟自 2006 年已全面禁止抗生素作為飼料添加物的使用。乳酸菌 (lactic acid bacteria)、芽孢桿菌 (*Bacillus* spp.) 等益生菌 (probiotics) 是一有效之生

物抑菌劑，添加於飼料中，可提升養殖物免疫力，具疾病防治效果，以減少用藥 (Promnuan and Kiriratnikom, 2018; Qin et al., 2020)。飼料製造過程須經高溫高壓，益生菌無法於製程中添加，只能於投餵前將益生菌溶水拌合吸附於飼料表面陰乾後投餵，費時費力且易溶失。本研究應用本所研發具有抗水產病原菌與增強成長及免疫功能的益生菌及益生素 (prebiotics)，組合成多功能複合微生物添加劑，應用於各種水產飼料，檢測生菌活存情形，並分析飼料儲藏期間，益生菌數量變化，建立添加多功能複合微生物製劑之益健飼料的最佳製程。建置白蝦 (*Penaeus vannamei*) 和午仔魚 (*Eleutheronema tetradactylum*) 驗證場域，進

行益健飼料飼養試驗，評估益健飼料對於白蝦和午仔魚的成長及罹病活存情形之影響，藉以研發含有改善養殖環境、增強生物成長及抗病複合微生物製劑之水產益健飼料，有效降低養殖風險，提升養殖成效，增加漁民收益。

## 二、益生菌乳化後包覆技術及活性評估

益生菌短小芽孢桿菌 D5 (*Bacillus pumilus* D5) ( $10^{10}$  CFU/g) 及乳酸菌腸膜明串珠菌 B4 (*Leuconostoc mesenteroides* B4) + 葡聚糖之優格 ( $10^8$  CFU/g) 組成之合益素 (synbiotics) (益生菌及益生素)，以 0.1% 添加於益健飼料中，選配不同 HLB 值 (hydrophile-lipophile balance) 之親水性及親油性乳化劑，將欲添加之合益素溶於水中，再加入 20% 魚油，添加 0.1% 親水性乳化劑均質，進行 O/W 型親水性乳化後，

導入 50–100 倍預乳化油中，並添加 0.3% 親油性乳化劑均質進行多重乳化 (O/W/O)，完成含合益素預乳化油製備，流程概略如圖 1 所示。

首先在實驗室內製作蛋白質 48%，脂質 12% 午仔魚益健飼料 (表 1) 及蛋白質 45%，脂質 7% 白蝦益健飼料 (表 2)，以益生菌 *B. pumilus* D5 ( $3 \times 10^{10}$  CFU/g) 及乳酸菌 *L. mesenteroides* B4 + 葡聚糖之優格 ( $4.6 \times 10^8$  CFU/g) 複合益生菌，以飼料 0.1% 經乳化後噴塗包覆於飼料上，分別進行儲藏期間之菌數活性測定，每週採樣進行菌數分析，結果，白蝦益健飼料第 9 週時 B4 菌數已降為  $< 1 \times 10^1$  CFU/g，D5 菌到第 24 週時，菌數仍維持在  $10^7$  CFU/g。

接著將乳化後包覆技術應用於益健飼料料商用製程，於商用飼料製程膨化飼料造粒乾燥後，以滾筒式或真空負壓式覆油，將含有合益素之乳化油噴塗包覆於飼料，所製成之商用飼料放置於常溫儲藏下，檢測其益生



圖 1 益健飼料技術套組擴散模式





表 1 午仔魚益健飼料基礎組成及成分分析

成 分 (g/100g 飼料重)	
魚 粉	40.0
豆 粉	10.0
烏賊粉	5.0
雞肉粉	15.0
麵 粉	20.0
魚 油	8.0
其 他*	2.0
一般組成 (n=3) (g/100g 飼料乾重)	
粗蛋白	48.12±0.98
粗油脂	12.33±0.87
水 分	7.89±0.25

\* 其他成分(g/100g 飼料重)：維生素預混物 0.4、礦物質預混物 0.6、磷酸二氫鈣 1.0

表 2 白蝦益健飼料基礎組成及成分分析

成 分 (g/100g 飼料重)	
魚 粉	30.0
豆 粉	25.0
烏賊粉	5.0
雞肉粉	15.0
麵 粉	20.0
其 他*	2.0
一般組成 (n=3) (g/100g 飼料乾重)	
粗蛋白	45.08±0.21
粗油脂	6.89±0.12
水 分	8.33±0.11

\* 其他成分(g/100g 飼料重)：維生素預混物 0.4、礦物質預混物 0.6、磷酸二氫鈣 2.0

菌活性皆可達  $10^6$  CFU/g (表 3)。由實驗室內所製作的益健飼料之益生菌活性評估可知，添加 B4 無法長時間儲存於飼料中，然而 B4 所發酵的優格裡含有乳酸菌所代謝的二次產物，例如葡聚糖，其可當作益生素，除了可促進魚隻非特異性免疫和增加飼料誘引性外，亦可作為腸道益生菌的營養來源，可強化益生菌的效益。因此，本研究以益生菌 + 益生素的模式，將添加技術應用於水產飼料商用製程中。

表 3 包覆益生菌 *B. pumilus* D5 商用飼料菌數檢測

飼料 D5 添加量 $1 \times 10^7$ CFU/g	<i>B. pumilus</i> D5 (CFU/g)
午仔魚料 1	$9.6 \times 10^6$
午仔魚料 2	$9.2 \times 10^6$
午仔魚料 3	$9.4 \times 10^6$
午仔魚料 4	$9.7 \times 10^6$
午仔魚料 5	$1.46 \times 10^7$
午仔魚料 6	$1.47 \times 10^7$
白蝦料 1	$3.8 \times 10^6$
白蝦料 2	$2.8 \times 10^6$
白蝦料 3	$3.3 \times 10^6$

芽孢桿菌耐受高溫之能力較乳酸菌強很多，乳酸菌比較嬌貴，不耐不良環境 (Christiansen et al., 2006; El-Jeni et al., 2016)，又，由於 *L. mesenteroides* B4 係分離自鱸魚之腸道 (黃等, 2017)，推測 B4 菌耐高溫之能力又較一般人體適用之乳酸菌為差，所以 30°C 常溫儲藏期間，B4 菌在飼料之菌數比較難維持在高菌數。飼料中添加 B4 菌投餵點帶石斑 (*Epinephelus coioides*)

的研究顯示，以傳統的微生物培養方式，在石斑魚腸道中並未檢測出 B4 菌，推測該菌在腸道中並沒有大量定殖（黃等，2019），添加 B4 菌投餵白蝦的研究顯示，以總基因體之分析方法，在白蝦的肝胰腺之菌相分析中發現比例低的 B4 菌之現象（黃與廖，2021），推測，乳酸菌 *L. mesenteroides* B4 在白蝦及石斑魚之腸道無法有效定殖，但是，可增強水產動物之生長，並提升對於細菌性疾病的抵抗力（黃等，2018, 2019）。金頭鯛飼料添加含有甘露寡糖（MOS）之商業合益素飼料，在 27°C 下飼養 8 週，然後升高水溫在 34°C 下飼養 10 天后，熱刺激緊迫後，其單核球細胞、溶菌酶、丙氨酸氨基轉移酶（ALT）和天冬氨酸氨基轉移酶（AST）等免疫型質顯著升高，先天免疫基因（*il-1β*、*ghr-1*、*tnf-α* 和 *igf-1*）顯著更高的表現，在熱刺激後，飼料添加合益素的魚其炎症反應顯著降低活存率顯著高於對照組，結果顯示飼料添加合益素可增強金頭鯛在熱應激期間的免疫健康狀況（Kheyrollah et al., 2021）。

### 三、白蝦益健飼料及驗證場域投餵試驗

目前白蝦在臺灣的主要養殖生產區在嘉義縣、臺南市、高雄市、屏東縣與宜蘭縣，近年因氣候變遷與蝦類新興疾病等因素造成活存率低，例如蝦類急性肝胰腺壞死綜合症（acute hepatopancreatic necrosis disease, AHPND）、蝦類肝胰腺微孢子蟲感染症

（*enterocytozoon hepatopenaei*, EHP）等，雖然近年因各單位積極推動生物安全防疫與推廣益生菌的使用，2022 年年產量增加為 9,490 公噸，然而離生產自足還有一段距離，目前仍從中南美洲（宏都拉斯及尼加拉瓜）或東南亞國家（馬來西亞、泰國及越南）進口冷凍白蝦以補足內需缺口。

白蝦益健飼料小規模試驗，於本所東港養殖研究中心使用 2 池 100 m<sup>2</sup> 室外池，平均水深 1 m 每池放養均重 0.038 g 白蝦苗 15,000 尾，經 134 天投餵益健飼料養殖試驗結果（表 4），投餵益健飼料池總收穫量 253.5 kg，收穫尾數 12,487 尾，活存率 83.2%，平均體重 20.31 ± 1.46 g，飼料轉換率 2.01。對照池收穫量 226.4 kg，收穫尾數 10,530 尾，活存率 70.2%，平均體重 21.58 ± 2.12，飼料轉換率 2.29。從結果顯示，白蝦投餵益健飼料有較佳之收穫量，活存率提高 13%，飼料轉換率降低 0.28。

表 4 白蝦投餵益健飼料成長試驗

	益健飼料	對 照 組
放養數量(尾)	15,000	15,000
初始均重(g)	0.038±0.004	0.038±0.004
收成均重(g)	20.31±1.46	21.58±2.12
養殖天數(日)	134	134
收成數量(尾)	12,487	10,530
總收成重量(kg)	253.5	226.4
活存率(%)	83.2	70.2
特定生長率(%/day)	4.68	4.73
飼料轉換率	2.01	2.29





因在白蝦小規模試驗中，活存率和收穫量有不錯表現，因此將驗證場域擴散到業界，並建立白蝦驗證場域 5 戶，洽請不同養殖業者協助投餵試驗，總實測場域面積 2.8 公頃，輔導益健飼料使用方法及強化池塘管理，白蝦養殖的鹽度介於 18–31 psu，驗證場域皆為專養，水質監測結果，氨氮、亞硝酸於投餵益健飼料皆較對照組低（圖 2）。

而在養殖期間，難免遇到季節交替或高水溫而造成疾病發生，然而從調查結果顯示，平均活存率方面，有使用益健飼料的組別為 92.9%，對照組則為 69.95%；在飼料轉換率 (FCR) 方面，益健飼料組介於 1.12–1.55，對照組則為 1.62–1.85；平均單位產量部分，益健飼料組 0.98 kg/m<sup>2</sup>，對照組 0.35 kg/m<sup>2</sup> (表 5)。

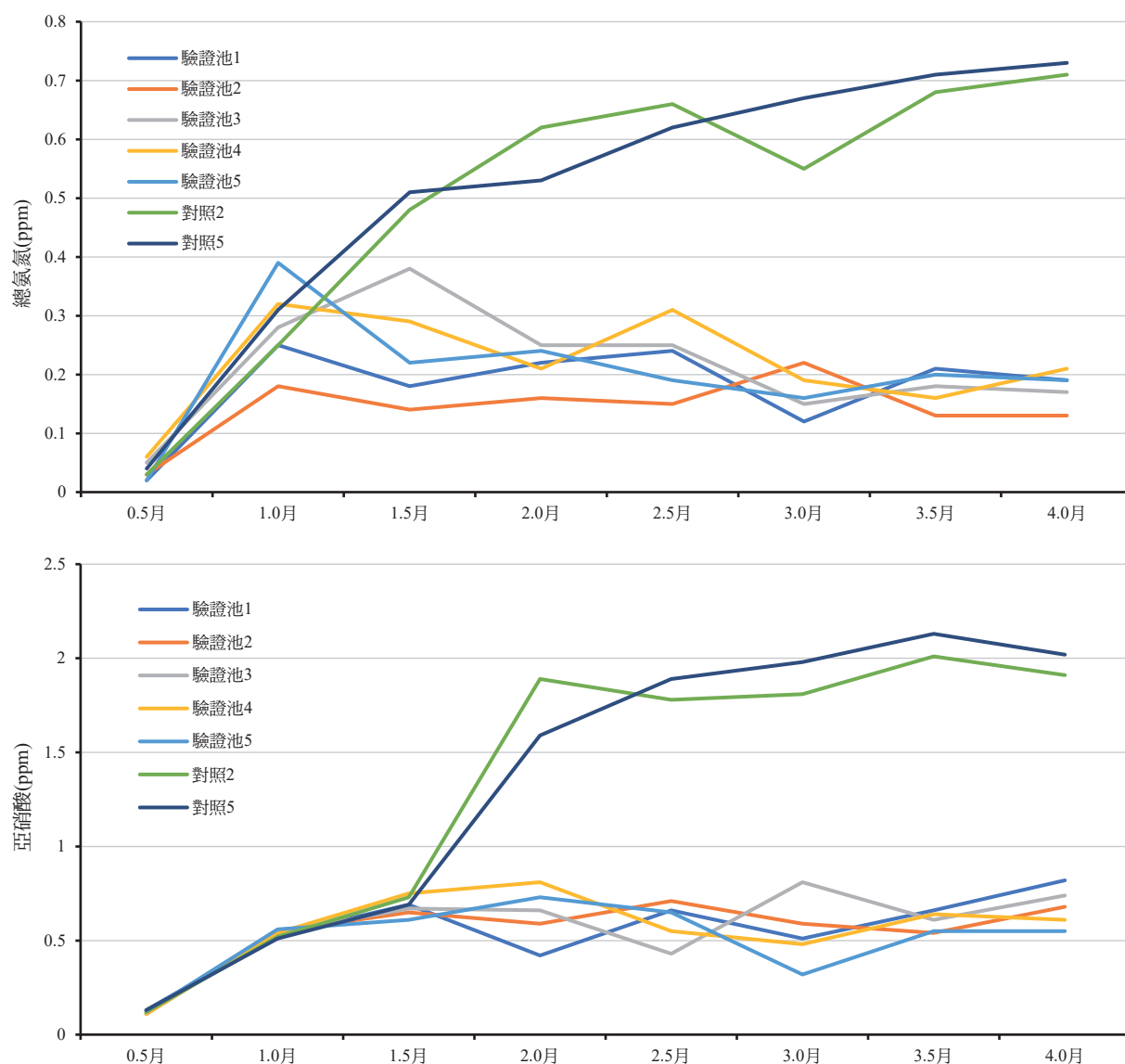


圖 2 白蝦驗證場水質監測

表 5 白蝦驗證場效益評估

	驗證場 1 (光電廠)	驗證場 2 (室外池)		驗證場 3 (溫 棚)	驗證場 4 (室外池)	驗證場 5 (室外池)	
	益健飼料	益健飼料	對 照	益健飼料	益健飼料	益健飼料	對 照
面積(公頃)	0.6	0.4	0.3	0.4	0.5	0.3	0.3
養殖密度(尾/m <sup>2</sup> )	100	37.5	33.3	100	40	33.3	33.3
放養數量(尾)	60 萬	15 萬	10 萬	40 萬	20 萬	10 萬	10 萬
養殖天數(日)	123	75	55	138	121	91	96
收成總重(kg)	10,800	3,180	660	7,620	7,680	2,280	1,380
收成均重(g)	20.9	21.8	10.3	20.9	21.6	20.1	18.2
產量(kg/ m <sup>2</sup> )	1.8	0.8	0.2	1.9	1.6	0.8	0.5
總飼料量(kg)	16,160	3,560	660	11,817	9,820	3,150	2,230
飼料轉換率	1.49	1.12	1.85	1.55	1.27	1.38	1.62
活存率(%)	86.5	97.3	64.1	91.2	89.5	100.0	75.8
售價(元/斤)	200	220	100	250	220	210	120
A 銷售總收入	3,600,000	1,166,000	110,000	3,175,000	2,816,000	790,000	276,000
B 飼料成本(元)	791,800	174,440	32,340	579,050	481,100	154,350	109,270
C 蝦苗成本(元)	138,000	34,500	23,000	92,000	46,000	23,000	23,000
收益(A-B-C)(元)	2,670,200	957,060	54,660	2,503,950	2,288,900	633,350	143,730
每分地收益(萬元)	44.5	23.9	1.8	62.5	45.8	21.1	4.8

篩選配合性高，驗證成果顯著之養殖戶 2 家，作為核心示範戶，做為宣導合理放養量，強化養殖及投餌管理技術之推廣示範場，並擴散推廣各 5 戶，以飼料效率 (feed efficiency, FE)、活存率及收益進行綜合成效評估，總技術擴散面積達 20.5 公頃，可提升養殖效益 10% 以上。

## 四、午仔魚益健飼料驗證場域投餌試驗

目前午仔魚在臺灣的主要養殖生產區在屏東縣佳冬鄉及林邊鄉，近年因高密度養殖加上魚隻本身易受驚嚇，在養殖中期容易罹患細菌性疾病，例如以好發於高水溫的鏈





球菌感染症與發光桿菌感染症，造成抗生素使用頻繁，然而午仔魚有八成以上外銷，各國與消費者對食品安全的逐漸重視，因此以益生菌取代藥物來養殖午仔魚格外重要。

午仔魚益健飼料小規模試驗，於東港中心使用 50 m<sup>2</sup> 圓形池，每池放養均重 1.5 g 午仔魚苗 600 尾，經 192 天益健飼料養殖試驗結果，投餵益健飼料組，收獲尾數 552 ± 11 尾，活存率 92.0 ± 3.1%，均重 254.3 ± 18.5 g，單位產量 2.8 ± 0.2 kg/m<sup>2</sup>，飼料轉換率 1.22 ± 0.09。對照組收獲尾數 480 ± 12 尾，活存率 80.2 ± 3.2%，均重 211.5 ± 28.9 g，單位產量 2.0 ± 0.3 kg/m<sup>2</sup>，飼料轉換率 1.38 ± 0.11。從結果顯示，午仔魚餵益健飼料，活存率顯著提高 12%，單位產量 (kg/m<sup>2</sup>) 顯著提高 25%，飼料轉換率略低但不顯著 (表 6)。

在午仔魚小規模試驗中，活存率和單位

產量亦有不錯表現，因此將驗證場域擴散到業界，並建立午仔魚驗證場域 5 戶，洽請不同養殖業者協助投餵試驗，總實測場域面積 10 公頃，期間輔導業者益健飼料使用方法及強化池塘管理，水質監測結果，午仔魚養殖換水率大，氨氮、亞硝酸皆維持在穩定低值 (圖 3)。在有使用益健飼料的組別平均罹病次數僅 0.8 次，低於對照組的 4 次；平均活存率方面，益健飼料組可達八成以上；飼料轉換率方面，5 場益健飼料組介於 1.22 – 1.49，反觀對照組則落在 1.75 – 1.85，因此使用益健飼料可以加速午仔魚達到上市體型；在養殖效益部分，每分地平均收益，益健飼料組新臺幣 30.3 萬元，對照組 7.1 萬元 (表 7)，此部分為尚未納入養殖生物罹病時所使用的藥物，若將其列入成本計算，二組別的收益則會差距更大。

表 6 午仔魚投餵益健飼料成長試驗

	益健飼料	對 照 組
放養數量(尾)	600	600
初始均重(g)	1.52±0.31	1.50±0.29
收成均重(g)	254.3±18.5	211±28.9
養殖天數(日)	192	192
收成數量(尾)	552±11 <sup>a</sup>	480±12 <sup>b</sup>
總收成重量(kg)	92.0±3.1 <sup>a</sup>	80.2±3.2 <sup>b</sup>
產量(kg/m <sup>2</sup> )	2.8±0.2 <sup>a</sup>	2.0±0.3 <sup>b</sup>
飼料轉換率	1.22±0.07	1.38±0.11

數值為平均值±標準誤差(S.E.), n=3

不同的上標表示顯著差異(a, b) ( $p < 0.05$ )

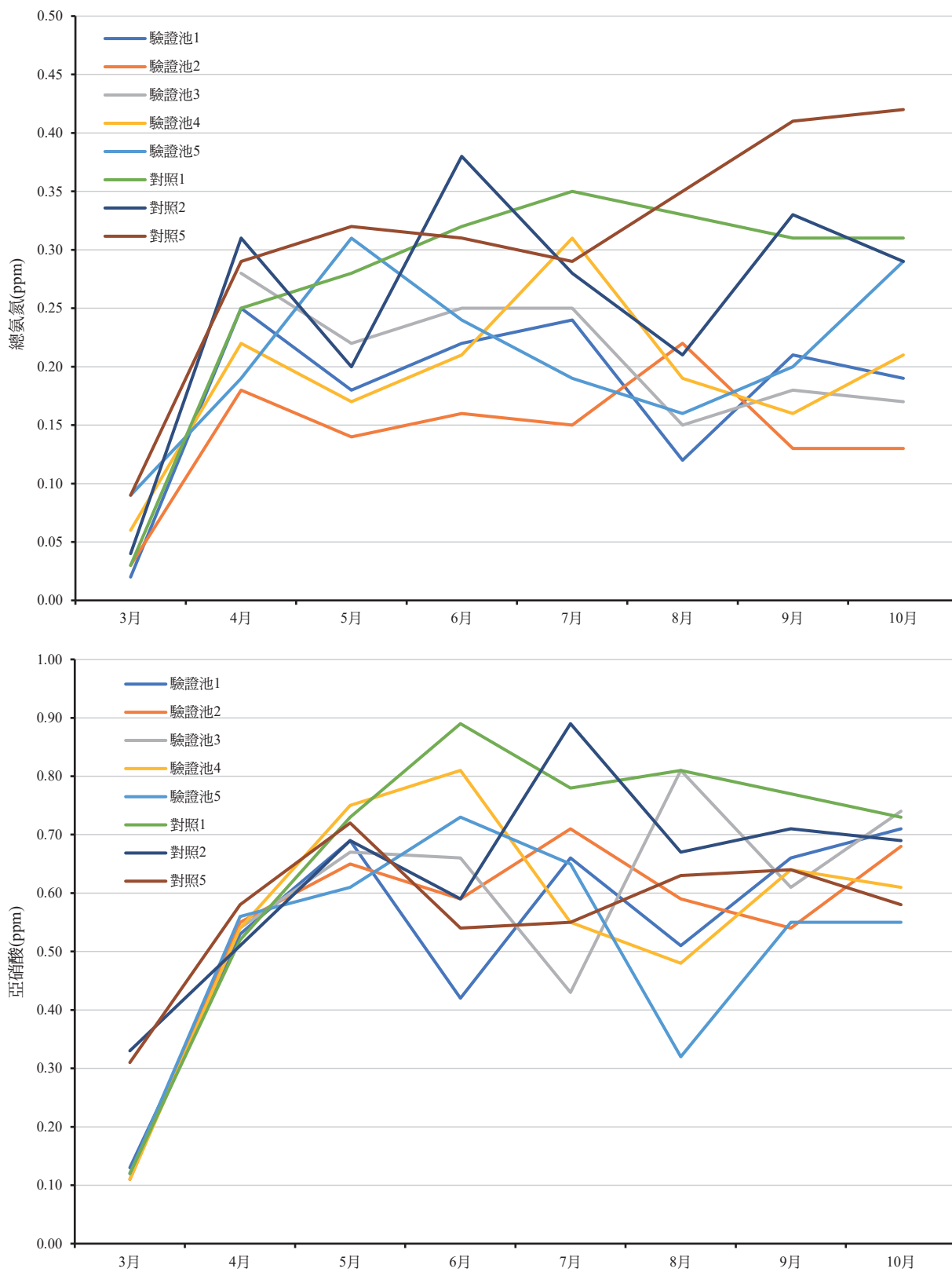


圖 3 午仔魚驗證場水質監測





表 7 午仔魚驗證場效益評估

(室外池)	驗證場 1		驗證場 2		驗證場 3	驗證場 4	驗證場 5	
	益健飼料	對 照	益健飼料	對 照	益健飼料	益健飼料	益健飼料	對 照
面積(公頃)	0.6	0.6	0.8	0.4	1.8	2.4	2.0	0.6
養殖密度(尾/m <sup>2</sup> )	10	10	12	12	10	10	15	15
放養數量(尾)	6 萬	6 萬	10 萬	5 萬	20 萬	25 萬	30 萬	9 萬
養殖天數(月)	7	7.6	7.3	8.6	6.6	6.2	7.5	8.5
罹病次數	1	4	1	3	1	0	1	5
收成總重(kg)	14,970	7,800	26,010	6,690	49,620	69,072	72,180	9,636
收成均重(g)	318.75	281.25	318.75	262.5	300	300	300	262.5
總飼料量(kg)	37,200	23,100	56,780	20,630	105,850	140,400	3,150	2,230
飼料轉換率	1.49	1.75	1.31	1.85	1.28	1.22	1.32	1.81
活存率(%)	78.5	46.3	81.6	51.4	82.7	92.1	80.2	40.8
售價(元/斤)	130	120	130	120	130	130	130	120
A 銷售總收入	3,246,000	1,560,000	5,635,000	1,338,000	10,750,000	14,965,600	15,639,000	1,927,200
B 飼料成本(元)	1,785,600	1,108,800	2,725,440	990,240	5,080,800	6,739,200	7,622,200	1,395,290
C 魚苗成本(元)	60,000	60,000	100,000	50,000	200,000	250,000	300,000	90,000
收益(A-B-C)(元)	1,400,400	391,200	2,809,560	297,760	5,469,200	7,976,400	7,716,800	441,910
每分地收益(萬元)	23.3	6.5	37.2	7.4	30.4	33.2	38.6	7.4

## 五、結語

綜合以上研究結果，添加合益素的水產飼料不僅為減少抗生素提供了可行的解決方案，更透過益生菌的使用提高了養殖動物的健康、生產性能，以及改善水產養殖環境，再加上後包覆技術的應用，有效提高了益生菌在飼料中的活性，維持益健飼料中有

效菌量，而這些成果對於解決養殖業面臨的疾病和品質問題，以及減少對抗生素的依賴具有重要的意義。透過試驗單位和養殖業者的共同努力，我們才能夠推動水產養殖業朝向永續的方向發展，不僅可以提高水產品品質，也保障了消費者的健康，同時有效地減少了養殖過程疾病發生率和風險，進而提升了養殖效率，為漁民帶來更多收益。

## 參考文獻

- 黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋、許晉榮 (2017) 美洲大嘴鱸腸道中葡聚糖產生菌 (*Leuconostoc mesenteroides* B4) 之篩選。水產研究, 25(2): 23-33。
- 黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋 (2018) 飼料中添加益生菌 *Leuconostoc mesenteroides* B4 及其異麥芽寡糖與葡聚糖產物對於點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 成長之影響。水產研究, 26(2): 1-19。
- 黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋 (2019) 點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 飼料中添加益生菌 *Leuconostoc mesenteroides* B4 及其異麥芽寡糖與葡聚糖產物對於魚隻抵抗病原菌之影響。水產研究, 27(2): 23-39。
- 黃美瑩、廖哲宏 (2021) 強化白蝦 (*Litopenaeus vannamei*) 成長與健康之複合益生菌研發。水產試驗所科技計畫期末報告書。
- Balcázar, J. L., D. I. Vendrell, I. de Blas, I. Ruiz-Zarzuela and L. Muzquiz (2009) Effect of *Lactococcus lactis* CLFP 100 and *Leuconostoc mesenteroides* CLFP 196 on *Aeromonas salmonicida* infection in brown trout (*Salmo trutta*). J. Mol. Microbiol. Biotechnol., 17: 153-157.
- Christiansen, P., E. W. Nielsen, F. K. Vogensen, C. H. Brogren and Y. Ardö (2006) Heat resistance of *Lactobacillus paracasei* isolated from semi-hard cheese made of pasteurised milk. Int. Dairy J., 16(10): 1196-1204.
- El-Jeni, R., M. El Bour, P. Calo-Mata, K. Böhme, I. C. Fernández-No, J. Barros-Velázquez and B. Bouhaouala-Zahar (2016) In vitro probiotic profiling of novel *Enterococcus faecium* and *Leuconostoc mesenteroides* from Tunisian freshwater fishes. Can. J. Microbiol., 62(1): 60-71.
- Kheyrollah K. K., M. Yaghoob, R. Mehrdad, G. Hamed, K. Aida, P. Hamed and S. Javier (2021) Effects of mannan oligosaccharide and synbiotic supplementation on growth performance and immune response of Gilthead Sea Bream (*Sparus aurata*) before and after thermal stress. Aquaculture Research, 52-8: 3745-3756.
- Promnuan, K. and S. Kiriratnikom (2018) Effect of different levels of *Bacillus licheniformis* supplements in diets on growth performance, feed utilization and intestinal bacteria of hybrid red tilapia. Thaksin Univ. J., 21(2): 43-50.
- Qin, L., J. Xiang, F. Xiong, G. Wang, H. Zou, W. Li, M. Li and S. Wu (2020) Effects of *Bacillus licheniformis* on the growth, antioxidant capacity, intestinal barrier and disease resistance of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Fish Shellfish Immunol., 97: 344-350.



# 淡水經濟魚種益健飼料最適應用研究

陳建彰<sup>1</sup>、劉佩玟<sup>1</sup>、謝豐群<sup>1</sup>、黃美瑩<sup>2</sup>、周瑞良<sup>3</sup>、蘇慧敏<sup>1</sup>、郭裔培<sup>1</sup>、楊順德<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 農業部水產試驗所淡水養殖研究中心

<sup>2</sup> 農業部水產試驗所水產養殖組

<sup>3</sup> 農業部水產試驗所東港養殖研究中心

## 摘要

目前養殖業者使用益生菌的方式，多以拌合吸附於飼料後投餵，但也因而致使微生物添加物的高流失性及增加業者的人力成本，其便利性、劑量、有效生物活性及養殖成效不一。因此，本篇研究團隊自 2021 年開始進行吳郭魚及鱸魚益健飼料開發，探討複合機能益生菌以飼料包覆技術並經活性確效產製之益健飼料，應用於淡水經濟魚種養殖，並依其養殖成效確立複合型益生菌添加飼料技術套組。

本研究結果顯示投餵益健飼料可以提升成長速度及活存率，養殖成效方面可以提升其飼料效率及增加單位面積收益、減少藥物使用量、在攻毒試驗則觀察到其對鏈球菌之抗病力有顯著提升，腸道菌相分析觀察到益生菌存在腸道中，抑制致病菌生長。透過運用複合有益微生物於飼料製程中添加，且尚維持一定的生物活性，達到後續商業化量產添加益生菌的優健飼料。

## 一、前言

吳郭魚 (*Oreochromis* spp.) 為臺灣重要的養殖物種，以往慣行技術追求單位產量提升，以增加放養密度和高成長魚種來換取養殖產能，反而忽略維持養殖環境穩定、減低養殖動物緊迫及周遭環境的生態平衡。尤其是近年來因氣候變遷，氣溫及水質的劇變易造成養殖動物緊迫而誘發疾病影響養殖效益。慣行的解決方式是利用藥物控制疾病以降低死亡率。臺灣吳郭魚苗每年放養量約為 1.5–2 億尾，由總年產量推估其養成活存率約為 50–60%，以法定水產動物用藥安默西林 (amoxicillin) 為例，其使用量為

40 mg/魚體重公斤/日，換算養殖現場使用量約為每公噸飼料添加安默西林 2 kg，且部分飼料添加 2 種以上抗生素，造成飼料成本上升約 10%，但以抗生素治療或預防性投藥將增加養殖成本，且衍生抗藥性致病菌、食用安全疑慮及週遭水域抗生素流布等問題，因此發展替代抗生素的疾病控制方式有其必要性。

利用益生菌預防控制養殖吳郭魚疾病在近年來日益受到重視，在養殖池中加入益生菌除可改善水質外，尚可利用益生菌與水中病原菌競爭和分泌抑菌物質而抑制病原菌的生長 (Zhou et al., 2009; Newaj-Fyzul et al., 2014)。腸道外源性益生菌的使用則具有

提高養殖動物成長性能和飼料效率 (feed efficiency, FE)、增強抗病力、提高動物緊迫抵抗力和總體活力，對改善水產動物體內外環保有重要的作用，且具有安全、無污染、無殘留等特點 (Nayak, 2010)。尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 投餵含雷曼氏乳酸桿菌 (*Lactococcus rhamnosus*)  $10^8 - 10^{10}$  CFU/g 之飼料 2 週後，以愛德華氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 感染攻毒，結果魚隻的累積死亡率顯著較對照組低，而雷曼氏乳酸桿菌可強化吳郭魚的補體系統、吞噬細胞聚集及增進吞噬活性，進而保護魚體免於因愛德華氏菌感染引起急性敗血死亡 (Pirarat et al., 2006)。飼料中添加市售乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis subsp. lactis*) 和腸膜明串珠菌 (*Leuconostoc mesenteroides*) 混合益生菌對尼羅吳郭魚非特異性免疫的效果，發現添加益生菌可增進魚體的溶菌酶活性、中性白細胞移行及和血漿殺菌活性，進而提高對愛德華氏菌的抗病力，尤其活菌的效果優於死菌 (Taoka et al., 2006)。在飼料添加市售益生菌 Biogen 之試驗組，尼羅吳郭魚經飼養 120 天，其增重、特定生長率 (specific growth rate, SGR)、蛋白質效率和能量蓄積均顯著高於對照組，由生產效能和成本效益分析結果顯示，飼料添加益生菌有較高的淨收益和較低的總成本 (El-Haroun et al., 2006)。於飼料添加枯草桿菌 (*Bacillus subtilis*) 和嗜酸乳桿菌 (*Lactobacillus acidophilus*) 混合益生菌，餵飼尼羅吳郭魚 1–2 個月，其體增重和活存率明顯提高，再以親水性產氣單胞菌 (*Aeromonas*

*hydrophila*)、螢光假單胞菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 及瓶鼻海豚鏈球菌 (*Streptococcus iniae*) 進行攻毒試驗，結果血容比亦較對照組高，而混合益生菌組的 NBT (nitroblue tetrazolium) 測試、嗜中性球黏附 (neutrophil adherence)、溶菌酶活性及血清殺菌活性也較未添加組高 (Aly et al., 2008)。尼羅吳郭魚投餵飼料含 0.1% 的糞腸球菌 (*Enterococcus faecalis*) 和嗜酸乳桿菌混合益生菌，魚隻成長對照組明顯較佳 (Lara-Flores et al., 2010)。尼羅吳郭魚苗投餵乳酸菌鼠李糖乳桿菌 (*Lactobacillus rhamnosus*) 及乳酸乳球菌提升成長及飼料利用率、促進其腸絨毛增生、增加免疫相關基因表現，對無乳鏈球菌抗病力提升 (Xia et al., 2018)。由吳郭魚腸道中篩選出一具有分泌蛋白酶與木聚醣酶之菌株魯梅利桿菌 (*Rummeliibacillus stabekisii*)，對尼羅吳郭魚成長促進、免疫調節、抗病及腸道菌相變化有所提升 (Tan et al., 2019)。紅色雜交吳郭魚投餵 0.5–1% 的桿菌屬 (*Bacillus* spp.) 益生菌 21 天，並進行湖泊病毒 (Tilapia lake virus, TiLV) 攻毒試驗，有效降低死亡率、感染病毒量顯著下降、免疫相關基因表現上升，可有效提升魚隻免疫力對抗湖泊病毒感染 (Waiyamitra et al., 2020)。益生菌在吳郭魚養殖應用上，可以有效提高其成長效能及抗病能力，達到減抗、降低成本及防治養殖上的容易遭受的突發風險。

金目鱸 (*Lates calcarifer*) 為臺灣重要的經濟養殖物種之一，2021 年產量約 1.6 萬公噸 (排名第 5)，產值約為新臺幣 16 億





元，主要產區集中於嘉義縣、臺南市、高雄市及屏東縣（漁業署，2022）。魚苗來源分為國內繁殖及泰國進口，剛入池的金目鱸魚苗常因虹彩病毒爆發，引起細菌性疾病共同感染，往往造成嚴重的死亡。高雄市水產檢驗站收集 2017 年的 890 件金目鱸病例進行分析，顯示前三高病例數分別為虹彩病毒感染症、細菌性疾病及車輪蟲感染症（馬等，2018）。泰國當地養殖金目鱸之弧菌科分布及抗藥性之高盛行率分析顯示（Raharjo et al., 2022），自 15 個養殖場分離出 283 種弧菌科（Vibrionaceae），主要為哈維氏弧菌（*Vibrio harveyi*）、發光桿菌（*Photobacterium damsela*）及創傷弧菌（*V. vulnificus*），其中哈維氏弧菌會導致金目鱸出現肌肉壞死和鱗片脫落的臨床症狀，大部分的弧菌菌株已帶有多重抗藥性。金目鱸投餵益生菌的相關研究指出，從自體腸道分離出的乳酸菌（融合魏斯氏菌；*Weissella confusa*），經培養後添加到飼料中餵飼魚苗，可以提升其成長，且感染親水性產氣單胞菌後有較佳的活存率（Rengpipat et al., 2008）。自金目鱸魚苗的腸道分離出腸球菌（*Enterococcus hirae*），發現能抑制哈維氏弧菌的活性，可以作為金目鱸養殖用益生菌（Fathiah et al., 2020）。相較於單一益生菌各有其不同功效，複合式益生菌會產生協同作用，枯草桿菌及戊糖乳桿菌（*Lactobacillus pentosus*）可以提升成長效能，發酵乳桿菌（*Lactobacillus fermentum*）及酵母菌（*Saccharomyces cerevisiae*）可以提升對產氣單胞菌的抗病力，上述 4 種益生菌同時投

餵時更能發揮加乘性（Lin et al., 2017）。金目鱸魚苗連續投餵酵母菌及乾酪乳桿菌（*Lactocaseibacillus casei*）56 天後，可以觀察到成長率及飼料轉換率提升，其腸道粘膜杯狀細胞（goblet cells）數量較高及腸微絨毛長度增加，腸道菌群的生物多樣性提升且致病性的葡萄球菌屬（*Staphylococcus*）及棒狀桿菌屬（*Corynebacterium*）比例減少（Muhammad et al., 2022）。因此，益生菌對於金目鱸可以提高其成長效能及抗病力，改善腸道菌相及健康。

近年來產學研單位已分別開發出各種菌株、分別應用於各式水產動物養殖；然而各類益生菌生物特性不同，添加於飼料的方法、保存方式、期限各自不同，導致大型飼料廠無意願修改製程大量生產添加益生菌的優健飼料，各式商轉水產益生菌的產業推廣多以個體養殖戶在投餵飼料前添加，導致人力成本提升，養殖成效不一，亦大幅限縮了商轉水產益生菌技術擴散的成效。本研究為運用複合益生菌於飼料製程中添加，且維持一定的生物活性，以本所水產養殖組研發的多功能之益生菌短小芽孢桿菌 D5（*Bacillus pumilus* D5）（黃等，2016）及腸膜明串珠菌 B4（*Leuconostoc mesenteroides* B4）含葡聚糖（黃等，2017），透過飼料包覆製程並經菌株活性確效，與生技公司及飼料廠合作，共同商業化量產益健飼料，並與業界合作建置吳郭魚及金目鱸養殖驗證場域，將技術套組擴散至產業界，有效增加成長率、活存率及抗病力，以求達到減抗和增進養殖效益之目標。

## 二、業界吳郭魚益健飼料技術 驗證場域建置

為進行益健飼料技術套組之養殖實際驗證，於淡水養殖研究中心進行田間試驗，同時與多家水產養殖業者合作建置驗證場域（表 1），試驗組投餵含複合益生菌後包覆的益健飼料，對照組投餵同配方未添加益生菌的商用飼料。進行成長追蹤、水質檢測、攻毒試驗、腸道菌相調查、腸道型態分析，統計期間用藥情況，並計算整體養殖成效。

### （一）彰化縣鹿港鎮淡水養殖研究中心

試驗組及對照組養殖面積每池 150 m<sup>2</sup>，

放養 835 尾魚苗，平均體重 12.57 g，換算養殖密度 5.5 萬尾/公頃，進行二重複試驗。

### （二）嘉義縣義竹鄉陳姓養殖場

試驗組面積 0.37 公頃，放養 2.5 萬尾越冬魚，平均體重 245 g；對照組面積與試驗組相同，放養 1.5 萬尾越冬魚，平均體重 192 g。

### （三）高雄市湖內區劉姓養殖場

試驗組面積 0.5 公頃，放養 3 萬尾，平均體重 269 g。對照組-1 面積 1 公頃，放養 4.4 萬尾，平均體重 277 g。對照組-2 面積 0.5 公頃，放養 2.7 萬尾，平均體重 176 g。

### （四）嘉義縣布袋鎮林姓養殖場

試驗組面積為 0.6 公頃，放養 2 萬尾魚

表 1 吳郭魚益健飼料的驗證場域規模與放養參數

場域或農戶 名稱 / 地點	試驗組別	放養魚隻規格 (g)	面 積 (公頃)	放養數量 (尾)	養殖密度 (尾/公頃)	養殖天數 (日)
淡水養殖研 究中心	試驗組-1	16	0.015	835	55,667	242
	試驗組-2		0.015	835	55,667	
	對照組-1		0.015	835	55,667	
	對照組-2		0.015	835	55,667	
嘉義縣 陳姓養殖場	試驗組	245	0.37	25,000	67,568	151
	對照組	192	0.37	15,000	40,541	226
高雄市 劉姓養殖場	試驗組	269	0.5	30,596	61,192	132
	對照組-1	277	1	44,325	44,325	
	對照組-2	176	0.5	27,580	55,160	
嘉義縣 林姓養殖場	試驗組	16	0.6	20,000	33,333	330
	對照組		1	30,000	30,000	
臺南市 洪姓養殖場	試驗組	27	0.5	26,598	53,196	344
	對照組		0.4	22,396	55,990	
嘉義縣 李姓養殖場 第 1 年	試驗組-1	0.5	0.82	57,000	69,512	220
	試驗組-2	334	0.4	11,500	28,750	92
	試驗組-3	334	0.4	11,500	28,750	92
	對照組	20.8	0.38	28,000	73,684	167
嘉義縣 李姓養殖場 第 2 年	試驗組-1	30	0.82	23,000	28,049	223
	試驗組-2	57	0.4	11,500	28,750	304
	試驗組-3	400	0.4	11,500	28,750	220
	對照組	57	0.3	15,000	50,000	186



苗，對照組面積 1 公頃，放養 3 萬尾魚苗。皆於 4 月放養約 16 g 的越冬魚苗，養殖密度 3 萬尾/公頃。

#### (五) 臺南市學甲區洪姓養殖場

試驗組面積 0.5 公頃，放養 2.6 萬尾。對照組面積 0.4 公頃，放養 2.2 萬尾，於前一年 8 月放養 27 g 的越冬寸苗，養殖密度 5 萬尾/公頃。

#### (六) 嘉義縣布袋鎮李姓養殖場(第 1 年)

試驗組-1 面積 0.82 公頃，放養 8 萬尾魚苗，育成至 300 g 以上時各分養 1.15 萬尾至試驗組-2 及 3，面積 0.4 公頃，原池續養 5.7 萬尾。對照組面積 0.38 公頃，放養 2.8 萬尾寸苗，養殖期間自同年 4—11 月。

#### (七) 嘉義縣布袋鎮李姓養殖場(第 2 年)

試驗組共有 3 池，面積合計 1.62 公頃，放養 4.6 萬尾，養殖密度 2.8 萬尾/公頃。對照組面積 0.3 公頃，放養 1.5 萬尾，養殖密度 5 萬尾/公頃。

### 三、吳郭魚投餵益健飼料成長效能

定期量測各養殖場域魚隻形質體長，每組隨機採樣 20 尾以上紀錄各階段成長情形，相關成長參數分別為體重 (g)、日增重 (g/day)、特定生長率 (%/day) 及肥滿度 (%)。各項成長參數公式如下：日增重 (g/day) = [魚隻平均末重(g) - 魚隻平均初重 (g)]/day；特定生長率 (%/day) = [(ln 魚隻平均末重(g) - ln 魚隻平均初重(g))/實驗天數] × 100；肥滿度 (%) = (魚隻平均體重/魚

隻平均體全長<sup>3</sup>) × 100。

淡水養殖研究中心試驗結果顯示，魚苗經 242 天養殖至 800 g 規格，均重方面試驗組高於對照組，林姓吳郭魚養殖場養至 400 g 以上後，自夏季開始投餵益健飼料 200 天後，試驗池的均重提升 17%。洪姓養殖場投餵吳郭魚益健飼料後養殖 212 天，對照組自 683 g 成長至 1,275 g，試驗組自 551 g 成長至 1,291 g。三個場次其試驗組的日增重皆高於對照組，試驗組肥滿度亦略高於對照組 (圖 1)。

李姓養殖場在第 1 年放養魚苗，育成至 250 g 以上後，紀錄其階段性養殖成長，試驗組-1 將 300 g 以上的各分養 1.15 萬尾至試驗組-2 及 3，試驗組-1 均重 254 g，試驗組-2 及 3 均重 334 g。經 3 個月養殖，分析 4 池的養殖效能，顯示經分池後試驗組-2 及 3 成長效能高於對照組，試驗組-1 介於之間 (表 2)。第 2 年李姓養殖場依商業考量各池分別放養不同規格的吳郭魚，因市場的全魚價格較為浮動，放養不同規格的魚可在不同時間點收成，避免和同業競爭出魚。結果 3 池試驗組皆養至 1,300 g 收成，其中試驗組-2 上半年放養 400 g 魚隻至第一次階段性收成，下半年再接續放養 150 g 魚隻 8,000 尾，對照組則自 90 g 養至 700 g 時，因適逢夏季高水溫期造成疾病感染導致大量死亡，為避免更嚴重損失提早收成。試驗組日增重、特定生長率及肥滿度皆高於對照組 (表 3)。

綜合吳郭魚養殖成長效能結果顯示，投餵益健飼料平均可以有效提升收成重量，日增重、特定生長率及肥滿度亦較佳。



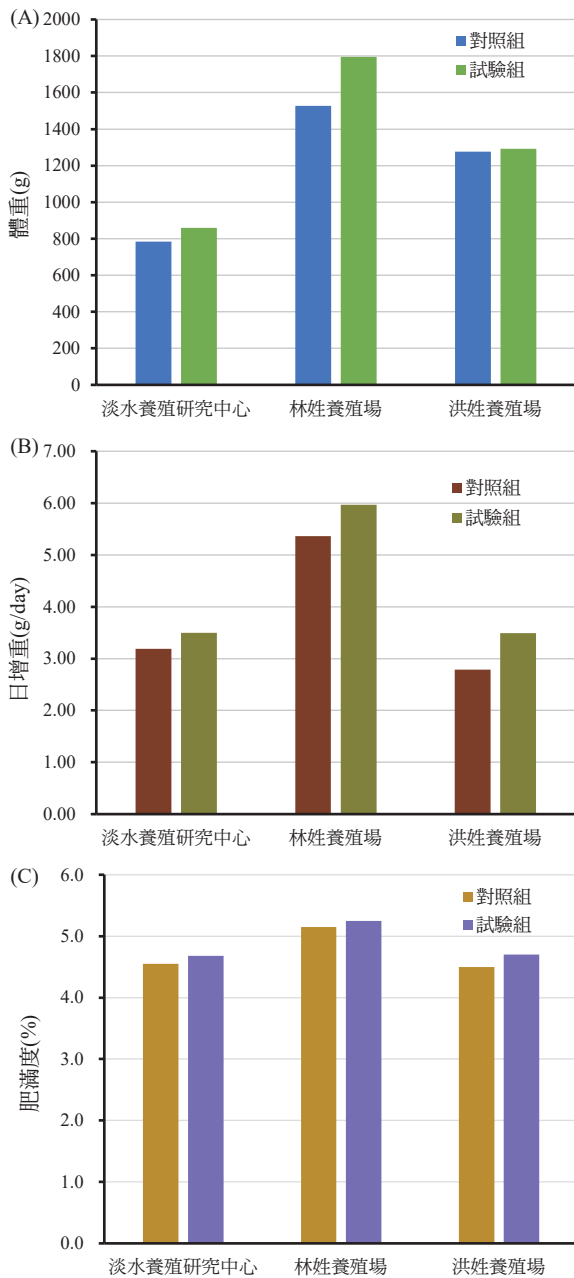


圖 1 吳郭魚投餵商用飼料及益健飼料的成長表現 (A：收成體重；B：日增重；C：肥滿度)

#### 四、吳郭魚養殖環境水質參數

投餵試驗期間定期檢測各場域水質參數，在水溫方面，2022 年 6–8 月期間溫度高於歷年同期，因各場域水深約 1.5–2 m，

在日照輻射加溫作用下，夏季白天高達 36°C，會影響攝食與疾病爆發的風險上升。各場域 pH 值主要介於 7–8，屬於適宜的範圍。白天溶氧大部分介於 4–8 mg/L，受到藻類濃度及天氣變化影響，養殖管理上調控水車開啟數量避免溶氧過低的情形發生。在氨氮及亞硝酸濃度 (圖 2) 方面，養殖前中期皆屬正常範圍，中後期則有上升的情形，養殖期間試驗組定期施用環境益生菌液化澱粉芽孢桿菌 (*Bacillus amyloliquefaciens*)，可以使氨氮及亞硝酸降解的速度較快，達到穩定水質，降低魚隻緊迫。

#### 五、吳郭魚養殖水體及腸道菌相檢測

為探討投餵益健飼料後，益生菌 D5 在魚體腸道組織中及環境水體之活性，經採樣魚的腸道組織及池水經過細菌培養，檢測其總生菌數及 D5 菌數。結果如圖 3 所示，於三個試驗場域試驗組的養殖池水中，皆能檢測到  $10^2 - 10^3$  CFU/ml D5，在吳郭魚腸道中皆能檢測到  $10^2 - 10^4$  CFU/g D5，對照組則皆無檢測到 D5，魚隻攝食益健飼料後確實觀察到益生菌 D5 穩定在養殖環境及生物體內保持活性。將採樣魚的腸道組織，以高通量次世代定序分析腸道菌群，每個樣本得到平均約 150,546 條有效序列 (effective reads)，將這些有效序列進行叢集 (cluster)，其中序列相似 (Identity  $\geq 97\%$ ) 歸類為同一個 OTU (operational taxonomic unit；操作分類單元)，最終再將所獲得的 OTU 進行菌種分



類 (annotation reads)；經資料分析，共 24,186 個 OTU。由表 4 分析結果觀察到，在 4 個菌屬中，葡萄球菌屬 (*Staphylococcus*)、產氣單孢菌屬 (*Aeromonas*)、愛德華氏菌屬 (*Edwardsiella*) 及弧菌屬 (*Vibrio*) 等相關致病菌屬，對照組的菌相比例皆高於試驗組。進一步比較 5 個菌種，在豚鼠產氣單胞菌 (*Aeromonas caviae*)、溫和產氣單胞菌

(*Aeromonas sobria*)、愛德華氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 及乳酸鏈球菌 (*Lactococcus garvieae*) 中，對照組菌相比例皆高於試驗組。此外，試驗組腸道有 0.015% *B. pumilus* D5 附生，對照組為 0.001%。因此，投餵益健飼料後確實觀察到益生菌 D5 定殖在腸道中，同時能抑制魚體內致病菌的存在，有效改善腸道菌相。

表 2 李姓養殖場第 1 年養殖吳郭魚投餵益健飼料 92 天後的養殖效能

	對照組	試驗組-1	試驗組-2	試驗組-3
養殖天數(日)	92	92	92	92
初始均重(g)	260.55	254.04	334.70	334.70
收成均重(g)	812.48	699.43	1,092.50	1,082.95
日增重(g/day)	5.99	4.84	8.24	8.13
特定生長率(%/day)	1.23	1.10	1.28	1.27
肥滿度(%)	5.03	5.11	5.54	5.67

表 3 李姓養殖場第 2 年養殖吳郭魚投餵益健飼料的養殖效能

	對照組	試驗組-1	試驗組-2 (3-6 月)	試驗組-2 (7-11 月)	試驗組-3
養殖天數	186	147	118	143	218
初始均重(g)	92.20	205.53	500.40	159.73	82.61
收成均重(g)	703.60	1,321.26	1,339.24	1,204.08	1,357.60
日增重(g/day)	3.32	7.59	7.11	7.31	5.85
特定生長率(%/day)	1.15	1.27	0.83	1.41	1.28
肥滿度(%)	5.34	5.56	5.52	5.46	5.28

試驗組-2 於 3 月放養第一批魚至 6 月間捕收成，於 7 月接續放養第二批魚至 11 月收成，對照組、試驗組-1 及 3 皆為同批放養至收成

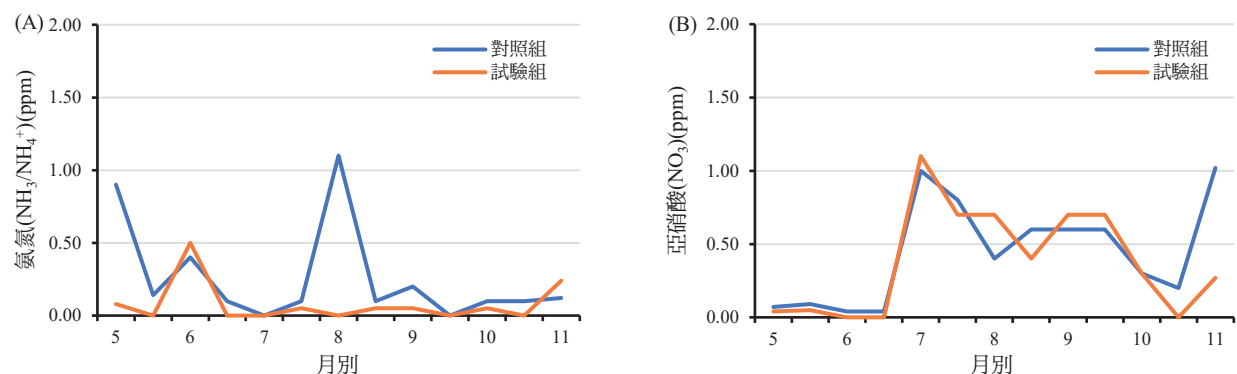


圖 2 養殖期間吳郭魚每日攝食益健飼料及池水中定期投放環境益生菌，定期量測水質參數 (A：水中氨氮濃度的變化；B：水中亞硝酸濃度的變化)

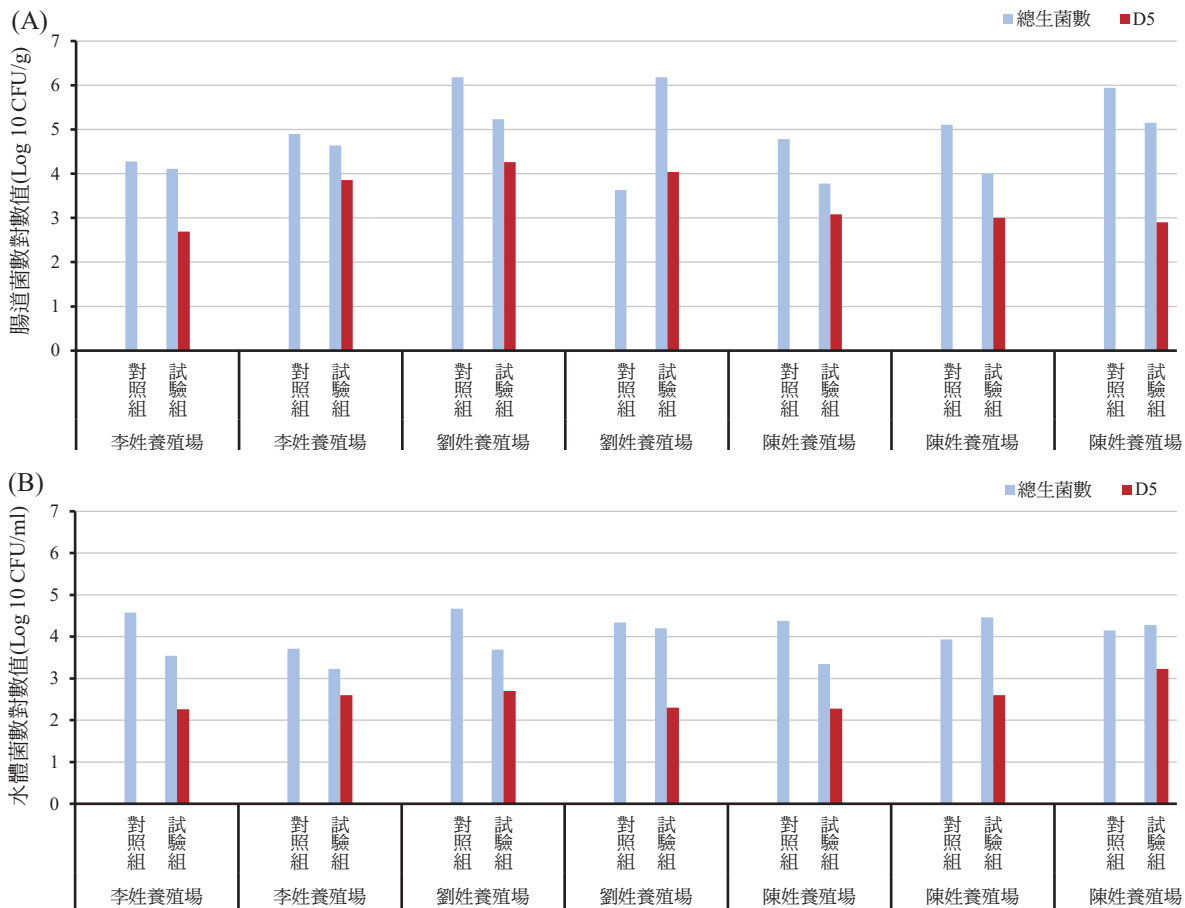


圖 3 吳郭魚攝食益健飼料期間總生菌數及短小芽孢桿菌 D5 菌數的變化(A：腸道組織所含的菌數；B：養殖池水的菌數濃度)

表 4 吳郭魚攝食益健飼料其腸道菌群中病原菌屬與菌種比例的變化，以及短小芽孢桿菌 D5 定殖於腸道中的比例

腸道菌群	對照組	試驗組
<b>屬名</b>		
葡萄球菌屬( <i>Staphylococcus</i> )	59 (0.081%)	3 (0.004%)
產氣單孢菌屬( <i>Aeromonas</i> )	339 (0.467%)	3 (0.004%)
愛德華氏菌屬( <i>Edwardsiella</i> )	28 (0.039%)	3 (0.004%)
弧菌屬( <i>Vibrio</i> )	443 (0.611%)	4 (0.006%)
<b>種名</b>		
豚鼠產氣單胞菌( <i>Aeromonas caviae</i> )	40 (0.055%)	0 (0%)
溫和產氣單胞菌( <i>Aeromonas sobria</i> )	188 (0.259%)	1 (0.001%)
愛德華氏菌( <i>Edwardsiella tarda</i> )	24 (0.033%)	3 (0.004%)
乳酸鏈球菌( <i>Lactococcus garvieae</i> )	2 (0.003%)	0 (0%)
短小芽孢桿菌( <i>Bacillus pumilus</i> D5)	1 (0.001%)	11 (0.015%)

數字代表細菌菌群中的 OTU 讀數，括號中的數字代表在各組中的相對豐度





## 六、吳郭魚攻毒試驗

為評估吳郭魚餵食益健飼料後之抗病力表現，以致病菌瓶鼻海豚鏈球菌進行攻毒試驗，以半致死劑量  $4.8 \times 10^6$  (CFU/fish) 進行腹腔注射，每組 10 隻魚做三重複，其中注射 PBS (phosphate buffered saline) 作為空白組，每天記錄死亡情形直至連續 3 天皆無死亡，檢測其致死率。空白組 10 天內皆無死亡，相較之下，對照組注射鏈球菌在第 3 天後開始有死亡情形，最終平均累積活存率為 50%，試驗組注射鏈球菌在注射第 4 天後開始死亡，最終平均累積活存率為 86.6% (圖 4)。結果顯示投餵益健飼料可有效提升其對鏈球菌之抵抗力，抵抗致病菌感染。

## 七、吳郭魚養殖用藥量及用藥頻率調查

高密度養殖及面臨極端氣候，現行放養之吳郭魚多為追求高成長而對疾病抵抗力似乎較低，因此慣行養殖方式是利用藥物控

制疾病以降低死亡率，但以抗生素治療或預防性投藥將增加養殖成本，且衍生抗藥性致病菌、食用安全疑慮及周遭水域抗生素流布等問題。因此，於李姓養殖場紀錄對照組及試驗組用藥頻率和總用藥量 (圖 5)，對照組用藥天數佔養殖天數 66.43%，試驗組-1、2 及 3 分別為 40、8.7 及 7.61%，用藥頻率降低 23—55%。在用藥量方面，對照組、試驗組-1、2 及 3 之用藥量換算成總用藥量/總飼料量百分比為 0.11、0.07、0.02 及 0.02%，相較對照組，試驗組用藥比例降幅達 40—86%。因此投餵益健飼料可有效降低用藥週期及總用藥量，達到減抗目的。

## 八、吳郭魚腸道組織型態分析

文獻指出白蝦 (*Penaeus vannamei*) 餵食腸膜明串珠菌 (*Leuconostoc mesenteroides* B4) 含葡聚糖可以增加其腸道絨毛高度 (黃等, 2023)。在吳郭魚投餵試驗中，對照組及試驗組的組織切片顯示，試驗組腸絨毛的發育良好，其排列緊密且高度增加，試驗

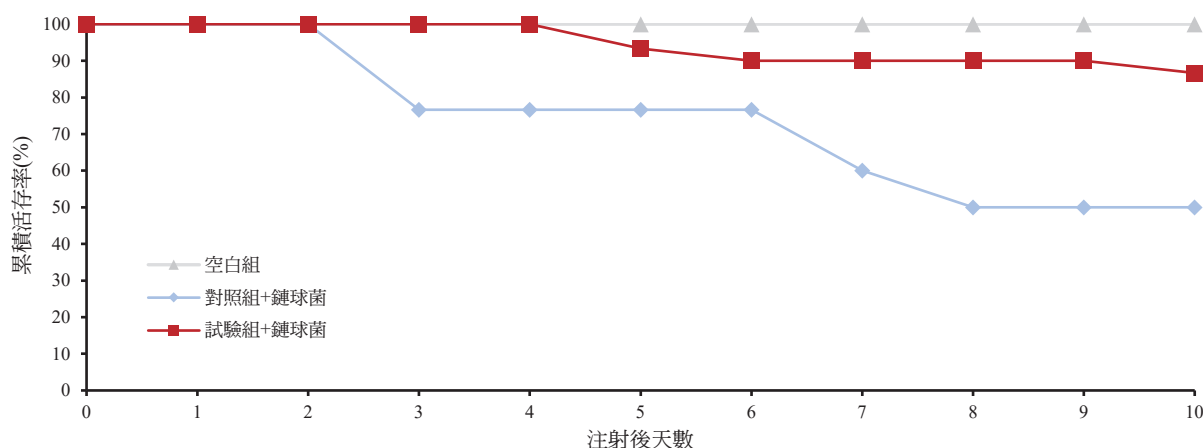


圖 4 吳郭魚投餵商用飼料及益健飼料 8 週後，以瓶鼻海豚鏈球菌(*Streptococcus iniae*)攻擊後之累積活存率

組腸絨毛高度為 466  $\mu\text{m}$ ，高於對照組 332  $\mu\text{m}$ ，有極顯著差異 ( $p < 0.001$ ) (圖 6A)。

道組織型態發育完善有利於增加吸收面積及提升消化利用率，提升成長表現。

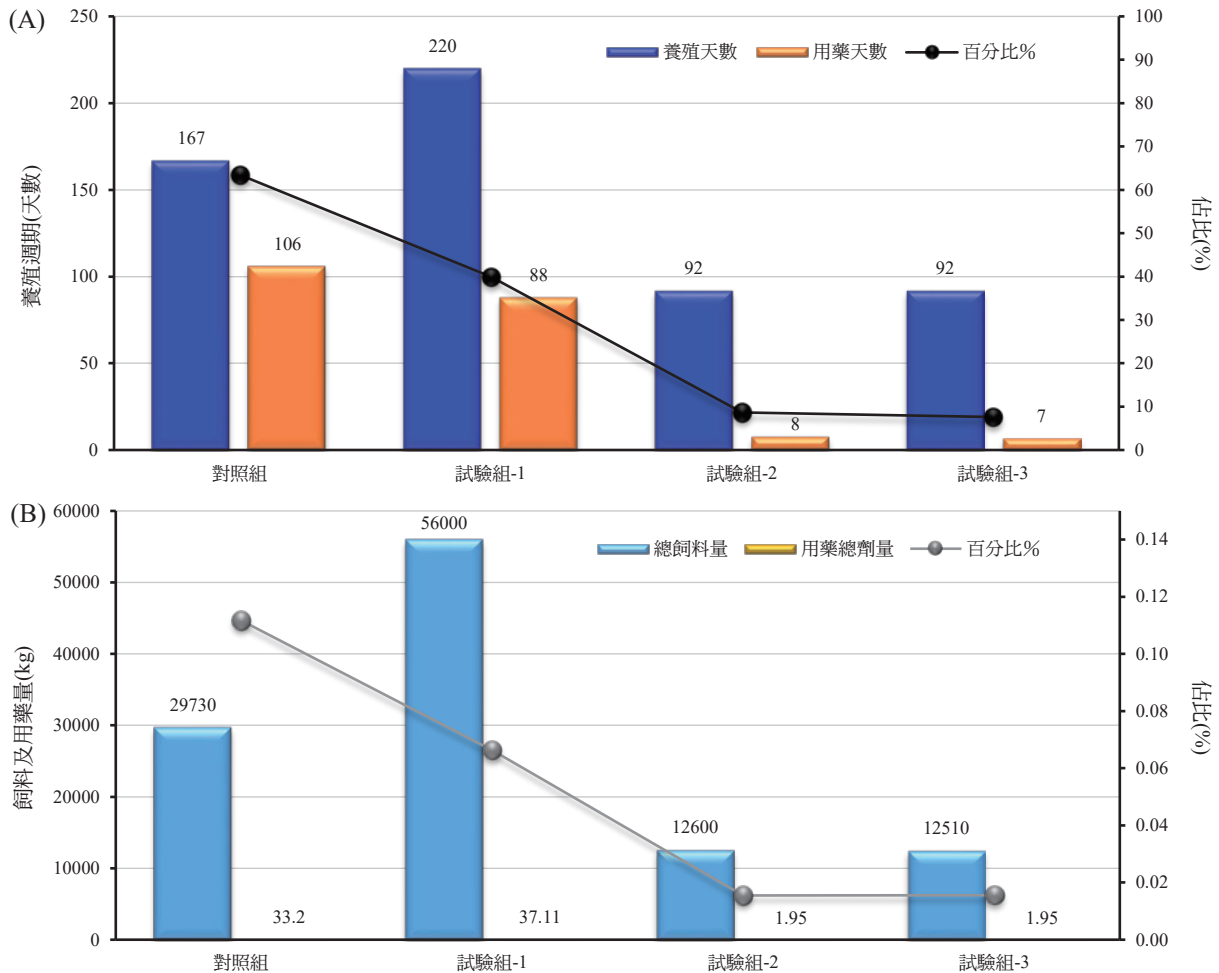


圖 5 養殖吳郭魚投餵益健飼料可縮短用藥頻率和減少用藥量 (A：用藥頻率；B：用藥量)

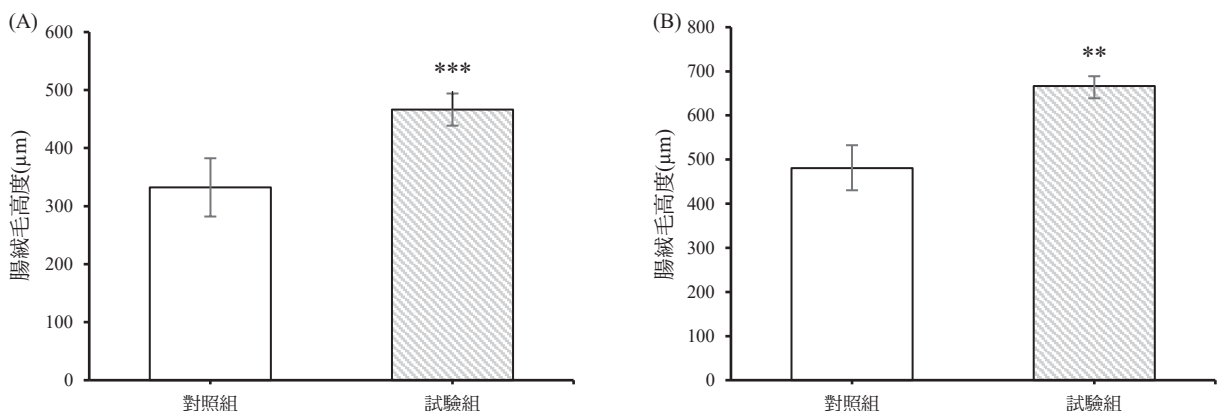


圖 6 魚隻投餵益健飼料 8 週後其腸絨毛高度比較，星號表示試驗組的數值較對照組有顯著差異(\*\* $p < 0.01$ ；\*\*\* $p < 0.001$ ) (A：吳郭魚；B：金目鱸)



## 九、吳郭魚投餵益健飼料養殖效益分析

李姓養殖場在第 1 年的對照組收成總重為 17,656 kg，試驗組-1、2 及 3 分別為 34,430、11,578 及 11,533 kg。依養殖規格 600–800 g 當時售價 26 元/斤，1,000 g 以上售價 33 元/斤。商用浮性飼料 21 元/kg，浮性益健飼料 21.2 元/kg。因試驗組分階段進行分養，前期分池前飼料成本依分養的魚隻數量按比例分配計算。經計算淨收益，對照組、試驗組-1、2 及 3 分別為 126、428、268 及 267 千元，換算成相同單位面積收益，則為 325、523、670 及 668 千元/公頃。4 池活存率分別為 77.61、83.36、92.16 及

92.61%。飼料轉換率分別為 1.74、1.50、1.67 及 1.67。相較於慣行養殖，使用益健飼料可以增加單位面積收益。三池試驗組均優於對照組。飼料轉換率方面三池試驗組亦較對照組佳（表 5）。

李姓養殖場在第 2 年的對照組及試驗組-3 同時放養 57 g 的魚苗，於 8 月下旬感染疾病造成損失，對照組為避免更嚴重損失即提早收成，其收成總重 4,800 kg，均重為 700 g，活存率 45%，淨收益為 14 千元。試驗組-2 上下半年共放養 2 批魚養成，加總後收成總重 25,045 kg，活存率 95.9%，淨收益為 357 千元。試驗組-3 則養至 9 月下旬，收成總重 13,513 kg，活存率 86%，均重為 1,300 g，淨收益為 300 千元。試驗組-1

表 5 李姓養殖場第 1 年養殖吳郭魚投餵益健飼料的效益評估

李姓吳郭魚養殖場 (第 1 年)	對照組	試驗組-1		試驗組-2	試驗組-3
	原池	分池前	分池後	分池後	分池後
魚塭面積(公頃)	0.39	0.82	0.82	0.40	0.40
放養數量(尾)	28,000	80,000	57,000	11,500	11,500
放養重量(kg)	582.40	40.00	-	4,025.00	4,025.00
養殖天數(日)	167	128	92	92	92
收成總重(kg)	17,656.82	-	34,430.14	11,578.32	11,533.42
收成數量(尾)	21,732	-	49,226	10,598	10,650
活存率(%)	77.61	-	86.36	92.16	92.61
飼料轉換率	1.74	-	1.50	1.67	1.67
當時售價(元/斤)	26	-	26	33	33
A 銷售總收入(元)	765,129	-	1,491,973	636,807	634,338
B 飼料成本(元)	624,330	630,064	557,136	267,120	265,212
C 魚苗成本(元)	14,000	40,000	28,500	5,750	5,750
D 分池前階段性養殖成本(元)	0	-	477,421	95,819	95,819
淨收益(A-B-C-D)(元)	126,799	-	428,916	268,118	267,557
單位面積收益(元/公頃)	325,125	-	523,069	670,295	668,892

試驗組-1 於 3 月放養魚苗，育成至 8 月時進行分池，分養 1.15 萬尾至試驗組-2 及 3，分池後試驗組-1 蓄養 5.7 萬尾



放養 30 g 魚苗，養殖 8 個月後收成均重為 1,321 g，收成總重 24,600 kg，活存率 80.9%，淨收益為 490 千元。試驗組的飼料轉換率為 1.62－1.43，活存率提升至 80% 以上，單位面積收益為 597－893 千元/公頃，皆較對照組為佳（表 6）。

林姓吳郭魚養殖場自 3 月養至隔年 2 月，對照組為 70.65%，試驗組為 74.6%。而試驗組的飼料轉換率 1.53 優於對照組 1.56。收成後計算其產量及收益，對照組每公頃收益為 671 千元，試驗組為 955 千元。試驗組的活存率提升 4% 以上，有較佳飼料轉換率及收益（表 7）。

綜合以上養殖成效分析結果顯示，投餵益健飼料可以增加單位面積收益及活存率，飼料轉換率亦較佳。

表 7 林姓吳郭魚養殖場投餵益健飼料的效益評估

林姓吳郭魚養殖場	對照組	試驗組
魚塭面積(公頃)	1.00	0.60
放養數量(尾)	30,528	20,340
放養重量(kg)	508.80	339.00
養殖天數(日)	330	330
收成總重(kg)	32,936	27,254
收成數量(尾)	21,569	15,175
活存率(%)	70.65	74.61
飼料轉換率	1.56	1.53
當時售價(元/斤)	31	31
A 銷售總收入(元)	1,701,683	1,408,144
B 飼料成本(元)	944,996	778,128
C 魚苗成本(元)	85,478	56,952
淨收益(A-B-C)(元)	671,209	573,064
單位面積收益(元/公頃)	671,209	955,107

表 6 李姓養殖場第 2 年養殖吳郭魚投餵益健飼料的效益評估

李姓吳郭魚養殖場 (第 2 年)	對照組	試驗組-1	試驗組-2	試驗組-3
魚塭面積(公頃)	0.30	0.82	0.40	0.40
放養數量(尾)	15,000	23,000	19,500	11,500
放養重量(kg)	855.00	1,073.00	6,238.80	655.50
養殖天數(日)	186	223	304	220
收成總重(kg)	4,800	24,600	25,045	13,513
收成數量(尾)	6,828	18,622	18,704	9,958
活存率(%)	45.52	80.97	95.92	86.59
飼料轉換率	2.28	1.62	1.49	1.43
當時售價(元/斤)	31	31	31	31
A 銷售總收入(元)	248,000	1,271,000	1,294,002	698,182
B 飼料成本(元)	167,850	716,300	529,685	346,652
C 魚苗成本(元)	65,250	64,400	406,965	50,025
淨收益(A-B-C)	14,900	490,300	357,352	301,506
單位面積收益(元/公頃)	49,667	597,927	893,380	753,764



## 十、業界金目鱸益健飼料技術驗證場域建置

本研究為實際驗證金目鱸益健飼料成效，於淡水養殖研究中心及 2 家水產養殖業者建置驗證場域（表 8），試驗組投餵含複合益生菌後包覆的鱸魚益健飼料，對照組則投餵同配方未添加益生菌的商用飼料。進行成長追蹤、腸道菌相調查、腸道型態分析，計算整體養殖成效。

### （一）淡水養殖研究中心

試驗組及對照組養殖面積各為 0.015 公頃，放養 600 尾魚苗，養殖密度為 4 萬尾/公頃。

### （二）臺南市學甲區洪姓養殖場

對照組面積 0.7 公頃，放養 4.4 萬尾 3 寸苗，試驗組面積 0.6 公頃，放養 3.8 萬尾 3 寸苗。養殖密度為 6.3 萬尾/公頃。皆於 6 月中放養。

### （三）雲林縣麥寮鄉許姓養殖場

有對照組及 2 組試驗組於 6 月中分池分養 1.8—2.2 萬尾魚苗，平均體重 70 g，每池面積 0.4—0.5 公頃，養殖密度為 3.6—4.5 萬尾/公頃。

## 十一、金目鱸投餵益健飼料成長效能

本所淡水養殖研究中心自 4 月下旬放養 3 寸苗並開始投餵鱸魚益健飼料，養殖 200 天後，試驗組末重提升 8.4%，試驗組日增重高於對照組，肥滿度則相近。洪姓養殖場在金目鱸的成長效能方面，自 30 g 的魚苗養殖 148 天後成長至 700 g 以上，試驗組的均重提升 10.1%、日增重高於對照組，肥滿度則略低於對照組（圖 7）。

許姓金目鱸養殖場自 2 寸苗育成至 70 g 以上時進行分池（表 9），並開始投餵鱸魚益健飼料，第一階段養殖 64 天後，其試驗組-1 日增重及特定生長率高於對照組，肥

表 8 鱸魚益健飼料的驗證場域規模與放養參數

場域或農戶 名稱 / 地點	試驗組別	放養魚隻規格 (g)	面 積 (公頃)	放養數量 (尾)	養殖密度 (尾/公頃)	養殖天數 (日)
淡水養殖 研究中心	試驗組	5	0.015	600	40,000	200
	對照組		0.015	600	40,000	
臺南市 洪姓養殖場	試驗組	5	0.6	38,000	63,333	284
	對照組		0.7	44,250	63,214	
雲林縣 許姓養殖場*	試驗組-1	5	0.5	18,000	36,000	122
	試驗組-2		0.5	22,865	45,730	
	對照組		0.4	18,000	45,000	

\* 放養 5 g 魚苗育成至 70 g 以上再分池

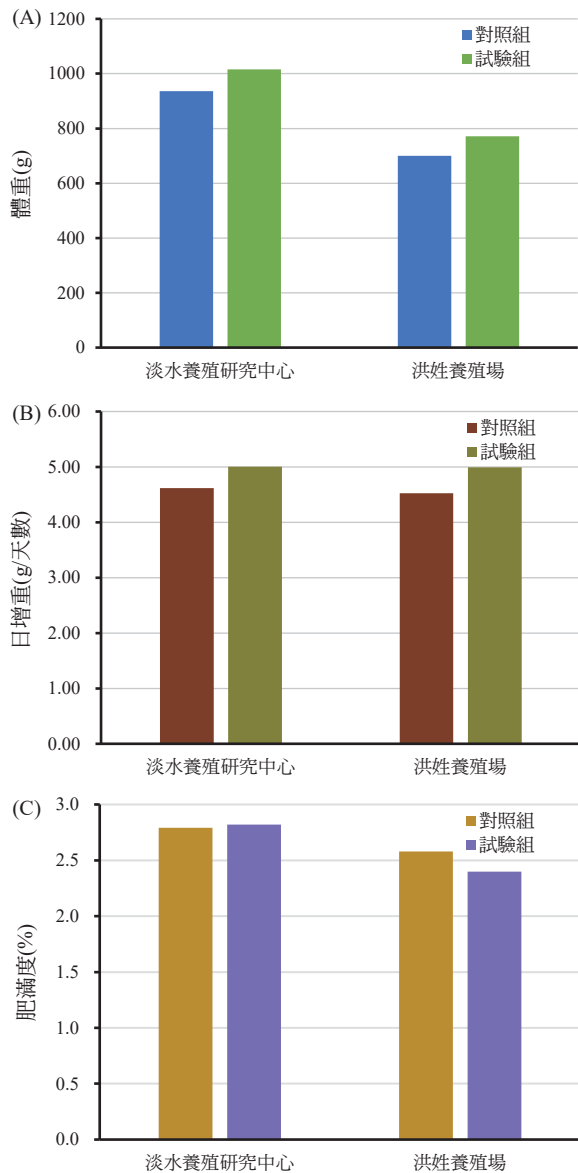


圖 7 金目鱸投餵商用飼料及益健飼料的成長表現 (A：收成體重；B：日增重；C：肥滿度)

滿度則無差異。因業者希望前述的對照組亦可以餵食益健飼料作為試驗組-2，故第二階段加入第 3 池餵食商用飼料作為對照組，從而比較 3 池成長情形，可以觀察到養殖 58 天從 500 g 成長至 750 g 以上時，2 池試驗組的日增重及特定生長率比皆高於對照組，肥滿度則無差異。

## 十二、金目鱸微生物菌相探討

於不同的技術驗證場分別採樣對照組及試驗組的腸道組織及養殖水體，其中每 3 尾魚組織混合成一個樣本，每個技術驗證場共採樣 6 尾。同時收集 1 L 養殖水體經濾除雜質及藻類後，將水中的微生物過濾濃縮於濾紙上進行核酸萃取，以高通量次世代定序分析微生物菌群，將所獲得原始數據透過 DADA2 功能先過濾掉測序品質差的序列 (Denoised reads) 後將兩端數據合併 (merge) 為單一條較長的序列 (merge read)，最後後得為有效序列 (effective reads)，再將這些有效序列進行菌種分類 (annotation reads)，以獲得擴增子序列變體 (amplicon sequence variant, ASV, taxonomy)，以得到各檢體所含的菌種種類及菌叢分布比例 (表 10)。

對照組及試驗組的腸道組織共得到 775 個 ASVs，分類結果可鑑別出 28 門，61 綱，137 目，204 科，267 屬，140 種，以及其餘未被分類 (unclassified)。由 Venn diagram 可得知各檢體之間 ASV 交集、聯集的關聯性，對照組共 247 個種，試驗組共 577 個種，2 者之間共 49 個種交集，僅佔 6.32%。以 alpha 多樣性分析菌群豐度指數及菌群多樣性指數，菌群豐度指數表示菌群中的物種總數，顯示試驗組腸道菌群物種數高於對照組。菌群多樣性指數表示群落中個體分配上的均勻性，顯示試驗組腸道菌群多樣性也高於對照組。投餵益健飼料增加腸道菌相的菌群豐富度及多樣性指數。在屬階層





表 9 許姓養殖場養殖金目鱸投餵益健飼料後的成長表現

	第一階段		第二階段		
	對照組	試驗組-1	對照組	試驗組-1	試驗組-2
養殖天數(日)	64	64	58	58	58
初始均重(g)	71.54	78.25	497.30	478.81	449.71
收成均重(g)	449.71	478.81	752.60	875.33	852.83
日 增 重(g/day)	5.91	6.26	4.40	6.84	6.95
特定生長率(%/day)	2.87	2.97	0.71	1.04	1.10
肥 滿 度(%)	2.51	2.50	2.57	2.50	2.51

第一階段的對照組養殖 64 天後，由商用飼料改投餵益健飼料以作為第二階段的試驗組-2，第二階段加入投餵商用飼料養殖池作為對照組

表 10 金目鱸攝食益健飼料其腸道與養殖環境水體的相關病原菌屬及有益菌屬的比例變化

腸 道 菌 群	對照組	試驗組
雙歧桿菌屬( <i>Bifidobacterium</i> )	339 (0.467%)	460 (1.75%)
芽孢桿菌屬( <i>Bacillus</i> )	0 (0%)	122 (0.47%)
魯梅利桿菌屬( <i>Rummeliibacillus</i> )	0 (0%)	24 (0.09%)
乳桿菌屬( <i>Lactobacillus</i> )	1 (0.003%)	63 (0.24%)
黃桿菌屬( <i>Flavobacterium</i> )	37 (0.14%)	33 (0.13%)
水 體 菌 群	對照組	試驗組
鏈球菌屬( <i>Streptococcus</i> )	314 (1.07%)	4 (0.0013%)
黃桿菌屬( <i>Flavobacterium</i> )	66 (0.22%)	0 (0%)
雙歧桿菌屬( <i>Bifidobacterium</i> )	15 (0.05%)	460 (1.75%)
乳桿菌屬( <i>Lactobacillus</i> )	39 (0.013%)	0 (0%)

數字代表細菌菌群中的有效讀序，括號中的數字代表在各組中的相對豐度

分析結果，觀察腸道菌群分布的比例，在芽孢桿菌屬 (*Bacillus*)、雙歧桿菌屬 (*Bifidobacterium*)、乳桿菌屬 (*Lactobacillus*) 及魯梅利桿菌屬 (*Rummeliibacillus*) 等相關有益菌，試驗組菌相的比例皆高於對照組，水產相關致病菌有黃桿菌屬 (*Flavobacterium*)，對照組菌相比比例略微高於試驗組。

對照組及試驗組的養殖池水菌相分析共得到 1,573 個 ASV，分類結果可鑑別出 32 門，70 綱，174 目，261 科，357 屬，157 種，以及其餘未被分類 (unclassified)。由 Venn diagram 可得知各檢體之間 ASV 交集、聯集的關聯性。對照組共 878 個種，試驗組共 914 個種，2 者間共 219 個種交集，佔 13.92%。不同於腸道菌相，試驗組的水

體菌群豐度指數及菌群多樣性皆與對照組相近。接著在屬階層分析結果觀察到其水體菌群分布的比例，雙歧桿菌屬 (*Bifidobacterium* spp.) 在試驗組較高，乳桿菌屬 (*Lactobacillus* spp.) 在對照組菌相的比例則高於試驗組，對照組的鏈球菌屬 (*Streptococcus* spp.) 及黃桿菌屬 (*Flavobacterium* spp.) 則是高於試驗組。

綜合以上，投餵益健飼料改變腸道菌相的菌群豐富度及多樣性指數，增加有益菌相關桿菌屬的比例，另水體菌相中的致病菌比例較低。

### 十三、金目鱸腸道組織型態分析

在金目鱸的對照組及試驗組的組織切片結果顯示，試驗組腸絨毛的發育亦較良好，為腸道吸收能力提升的表徵，其前腸的腸絨毛高度為 666.68  $\mu\text{m}$ ，高於對照組 480.65  $\mu\text{m}$ ，有顯著差異 ( $p < 0.01$ ) (圖 6B)。腸道組織型態發育完善有利於增加吸收面積及提升消化利用率，提升成長表現。

### 十四、金目鱸投餵益健飼料養殖效益分析

洪姓金目鱸養殖場自 6 月養至隔年 3 月，因對照組的池子面積大於試驗組，故放養的魚苗尾數較多，放養密度皆為 6.3 萬尾/公頃。經攝食益健飼料後其活存率可以提升 7%，飼料轉換率則相近，淨收益皆約為 1,300 千元，換算成單位面積收益則增加 288 千元/公頃 (表 11)。

表 11 洪姓金目鱸養殖場投餵益健飼料的效益評估

洪姓金目鱸養殖場	對照組	試驗組
魚塭面積(公頃)	0.7	0.6
放養數量(尾)	44,250	38,000
放養重量(kg)	263.4	226.2
養殖天數(日)	284	284
收成總重(kg)	20,934	20,137
收成數量(尾)	27,912	26,849
活存率(%)	63.08	70.65
飼料轉換率	0.71	0.70
當時售價(元/斤)	63	63
A 銷售總收入(元)	2,198,070	2,114,343
B 飼料成本(元)	634,293	600,753
C 魚苗成本(元)	243,375	209,000
淨收益(A-B-C)(元)	1,320,402	1,304,590
單位面積收益(元/公頃)	1,886,289	2,174,317

### 十五、應用益健飼料的健康管理技術

為因應極端氣候變化及減抗養殖，確立益健飼料應用在吳郭魚及金目鱸健康養殖管理技術 (圖 8)，結合益健飼料投餵管理技術、養殖管理及監控技術、疾病風險管控及養殖水體環境檢測，建置益健飼料安全養殖標準作業流程。

#### (一) 整池及作水

放養前的準備，需進行整池，定期移除舊土並補充新土，底土充分曝曬至龜裂，接著均勻潑灑石灰，再以機具翻土後使石灰及底土充分作用，可以調整池底酸鹼值及穩定後續池水 pH 值。潑灑消毒劑例如次氯酸鈣

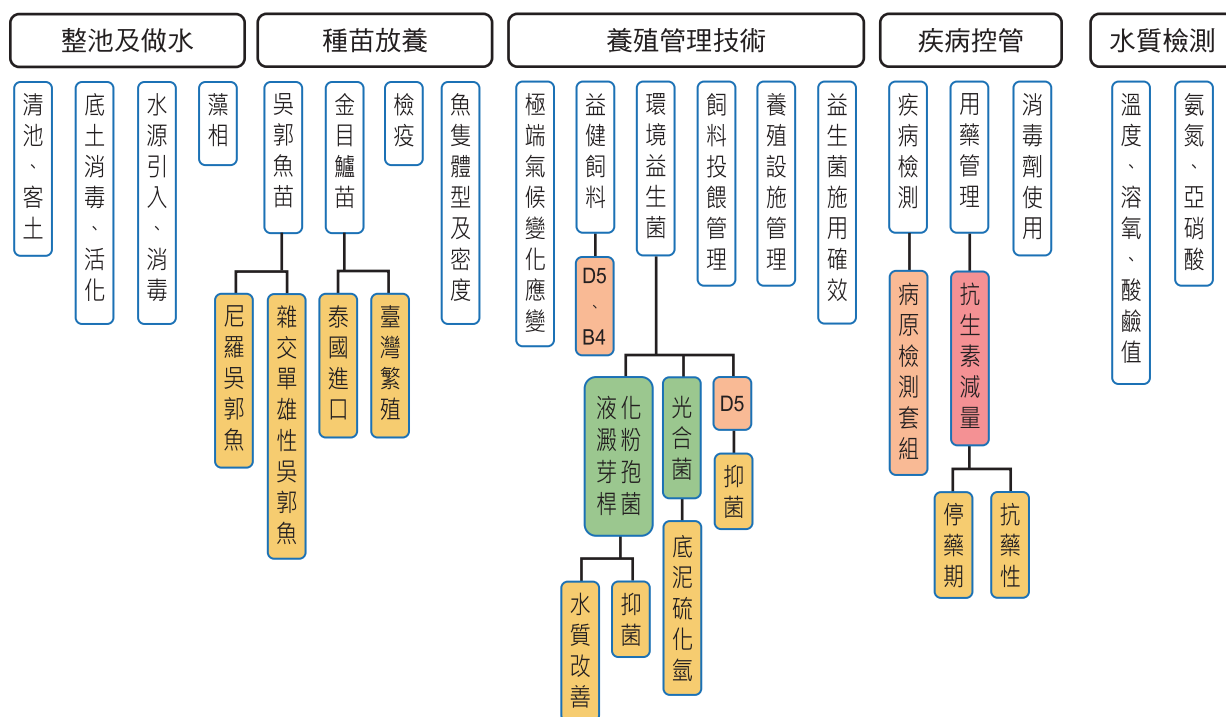


圖 8 應用益健飼料的健康管理技術

$\text{Ca}(\text{ClO})_2$  或次氯酸鈉  $\text{NaOCl}$ ，注水淹過表面以去除病原，最後引水進行做水，藻類形成的良好水色可以行光合作用增加水中溶氧量，並吸收代謝魚隻的排泄物及殘餌分解後的有機質，又水色對金目鱸的攝食習性影響甚大，若水色過清則部分金目鱸不敢至水面攝食，造成魚隻體型落差過大引發殘食現象。於池水中投放益生菌，可以穩定水質及抑制病原菌生長。

## (二) 種苗放養

為避免引入病原帶原魚苗，選擇具良善管理的種苗場，吳郭魚主要養殖品系為尼羅吳郭魚及雜交單雄性吳郭魚，尤其目前業界多為追求高成長系，其飼料效率較佳，成長快，惟對疾病的耐受度較差，抗病品系則反

之，多以 2—3 萬尾/公頃的密度養殖，亦有業者採 5—6 萬尾/公頃的高放養密度，依商業考量放養魚苗、20—50 g 的小魚或 150—300 g 的亞成魚。

金目鱸苗依產地來源分為臺灣自產的繁殖苗和泰國進口苗，兩者相比，泰國苗售價雖較高但是飼料效率較佳，兩者的產期亦不同，苗場自泰國進口魚花（又稱米粒苗），育成約 2—3 個月後，約於 2 月開始出售魚苗至 9 月，臺灣苗則約於 5 月後出售。依其養殖場條件決定放養密度，雲嘉南地區因無法大量換水條件，放養密度為 3—6 萬尾/公頃，高屏地區可以高頻率換水，可以較高密度養殖 20 萬尾/公頃。入池後 2 寸苗（5 g）養到 20—100 g 時進行分養分池，收



成時的育成率達 85—100%，若以原池 2 寸苗直接養成至成魚其育成率約 60—80%。金目鱸病毒性疾病包含神經壞死病毒及虹彩病毒，自苗場進苗前需檢疫及篩選，可以先於箱網內隔離飼養少量魚苗觀察其健康情形約 2 個星期，若無問題再購入魚苗，避免病毒帶原導致後續大量感染。

### (三) 養殖管理技術

近年來極端氣候變化應變，當魚隻面對長時間高溫且無降雨，或是短時間強降雨的情境時，藻菌大量死亡，加上殘餌及排泄物造成底土腐敗，水質容易惡化，魚隻緊迫且抵抗力下降，病原菌伺機侵入且滋長迅速，導致疾病爆發以至魚隻大量死亡；另，冬季強烈寒流時，水溫 15°C 以下停止餵食，若魚體表面出血為凍傷情況，需持續觀察數天，天氣回溫後表面傷口開始潰爛，嚴重時導致死亡，需增加防寒設施及抽取水溫較高的地下水入池保溫。為因應氣候變遷的異常，透過每日投餵含短小芽孢桿菌 D5 與乳酸菌 B4 含葡聚糖的益健飼料，可以促進吳郭魚及金目鱸的成長、提高育成率及增加魚體抗病力，有效強化魚隻的健康及耐受性，降低疾病發生率，進而達到抗生素減量，避免養殖中後期藥物敏感性降低及上市前藥物殘留檢出等風險。結合環境益生菌短小芽孢桿菌 D5、液化澱粉芽孢桿菌及光合菌投放至養殖池，能穩定養殖水體環境、改善底泥、抑制病原菌及優化魚隻體內外菌相。使用益健飼料投餵管理方面，觀察到吳郭魚攝食乳酸菌含發酵物的益健飼料較為踴躍，金目鱸因會殘食同類，魚苗期的馴餌尤為重

要，需養成定點定時投餵，育成時魚隻體型盡可能均一化，避免體型落差過大造成殘食，導致育成率不佳。魚苗階段以飽食為原則，每日 2 次以上，日投餌量佔體重的 10—20%，小魚階段日投餌量佔體重的 5—6%，中魚至成魚階段日投餌量佔體重的 2—3%，階段性增加投餵量，若觀察到攝食量銳減，則應暫時停餌並探究原因。養殖設施管理主要為水車的配置及啟閉時間，金目鱸對溶氧量更為敏感，成魚在池量每 7,000 斤時需配置 1 台水車，小魚在池量每 2,000 斤需配置 1 台水車，白天陽光充足時水中藻類行光合作用，水中溶氧量達 6—8 mg/L，若是陰天或夜晚則僅 2—3 mg/L，則再額外加開水車，並依照放養密度調整（圖 9）。

### (四) 疾病控管

疾病檢測方面，建議配合本所研發的常見病原檢測套組，定期檢測水體環境及魚體內病原菌數量，進而評估養殖環境發生疾病感染的風險指數、即時判別病因及定期檢測養殖物健康情形，減少疾病造成之損失。吳郭魚及金目鱸感染細菌性疾病時，應按照水產獸醫師指示施用合法水產用藥及用藥期。感染寄生蟲性疾病時，應使用獸醫師建議之用藥，並大量流水或換水，以降低水中寄生蟲數量及有機質濃度，據業者反應以益健飼料搭配潑灑水質益生菌，對於有機質和寄生蟲的減少有不錯的效果。金目鱸若遭遇病毒性疾病，期間應減少或暫停投餵，視其染病程度約 14—30 天不等，並維持水中溶氧量及水質穩定，降低其緊迫性，待其死亡數下降直至魚群穩定再恢復正常投餌。若發



圖 9 養殖吳郭魚投餵益健飼料及水車運轉

現死亡及浮游魚隻，應立即撈除，避免其腐壞影響水質及感染其他健康魚隻。

### (五) 水質檢測

定期水質檢測及搭配環境益生菌施用，可以快速降解氨氮及亞硝酸，穩定水質降低養殖物緊迫性，加上水車及造流增氧機使用，配合智能化監控水溫、溶氧及酸鹼值。

## 十六、結語

透過運用飼料包覆製程，將複合有益微生物於飼料製程中添加，整合相關產業包含保健飼料添加業者及飼料廠確立益健飼料

商業化生產製程，完成益健飼料技術套組開發，並於驗證場域進行養殖實證，顯示投餵益健飼料確證 *B. pumilus* D5 在魚體腸道中仍保有活性，可抑制病原菌生長，並有效提升成長效能、改善腸道菌相及腸道組織結構發育、提升飼料效率及育成率。因此，結合應用益健飼料安全管理技術之輔導機制，標準化養殖作業流程，以降低水產動物死亡之情形，強化養殖動物健康，進而減少抗生素施用，達成友善養殖及永續經營，生產安全零藥殘水產品，提升國際市場地位，增加產業競爭力。



## 參考文獻

- 漁業署 (2022) 民國 110 年漁業統計年報。
- 黃美瑩、朱惠真、陳力豪、劉旭展、曾亮瑋、潘崇良、張錦宜 (2016) 飼料中添加益生菌 *Bacillus pumilus* D5 對於白蝦成長、免疫反應及抗腸炎弧菌效率之影響。水產研究, 24(2): 37-49。
- 黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋、許晉榮 (2017) 美洲大嘴鱸腸道中葡聚糖產生菌 (*Leuconostoc mesenteroides* B4) 之篩選。水產研究, 25(2): 23-33。
- 黃美瑩、朱惠真、曾亮瑋 (2018) 飼料中添加益生菌 *Leuconostoc mesenteroides* B4 及其異麥芽寡糖與葡聚糖產物對於點帶石斑 (*Epinephelus coioides*) 成長之影響。水產研究, 26(2): 1-19。
- 馬丞佑、陳蒼宇、吳昭瑩、洪秋霜、林國忠、鄭佳奇、吳倩慈、林渝翔、陳煜婷、陳幸宜、林琮峻、陳威智、徐榮彬 (2018) 高雄市地區養殖金目鱸魚常見傳染性疾病。動物衛生報導第 35 期, 14-22。
- Aly, S. M., Y. A. G. Ahmed, A. A. A. Ghareeb and M. F. Mohamed (2008) Studies on *Bacillus subtilis* and *Lactobacillus acidophilus*, as potential probiotics, on the immune response and resistance of *Tilapia nilotica* (*Oreochromis niloticus*) to challenge infections. Fish Shellfish Immunol., 25: 128-136.
- El-Haroun, E. R., A. M. A. S. Goda and K. M. A. Chowdhury (2006) Effect of dietary probiotic Biogen supplementation as a growth promoter on growth performance and feed utilization of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.). Aquacult. Res., 37: 1473-1480.
- Lara-Flores, M., L. Olivera-Castillo and M. A. Olvera-Novoa (2010) Effect of the inclusion of a bacterial mix (*Streptococcus faecium* and *Lactobacillus acidophilus*), and the yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) on growth, feed utilization and intestinal enzymatic activity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Int. J. Fish. Aquacult., 2(4): 93-101.
- Lin, H. L., Y. L. Shiu, C. S. Chiu, S. L. Huang and C. H. Liu (2017) Screening probiotic candidates for a mixture of probiotics to enhance the growth performance, immunity, and disease resistance of Asian seabass, *Lates calcarifer* (Bloch), against *Aeromonas hydrophila*. Fish Shellfish Immunol., 60: 474-482.
- Masduki, F., M. Y. Jasmin, C. M. Chong and K. Murni (2020) Characterization of *Enterococcus hirae* Isolated from the Intestine of Seabass (*Lates Calcarifer*) as a New Potential Probiotic against Pathogenic Vibrios. Curr Microbiol., 77: 3962-3968.
- Muhammad, A. B. Siddik, Md Javed Foysal, Ravi Fotedar, David S. Francis and Sanjay K. Gupta (2022) Probiotic yeast *Saccharomyces cerevisiae* coupled with *Lactobacillus casei* modulates physiological performance and promotes gut microbiota in juvenile barramundi, *Lates calcarifer*. Aquaculture, 546: 737346.
- Nayak, S. K. (2010) Probiotics and immunity: A fish perspective. Fish Shellfish Immunol., 29: 2-14.
- Newaj-Fyzul, A., A. H. Al-Harbi and B. Austin (2014) Review: Developments in the use of probiotics for disease control in aquaculture. Aquaculture, 431: 1-11.
- Pirarat, N., T. Kobayashi, T. Katagiri, M. Maita and M. Endo (2006) Protective effects and mechanisms of a probiotic bacterium *Lactobacillus rhamnosus* against experimental *Edwardsiella tarda* infection in tilapia (*Oreochromis niloticus*). Vet. Immunol. Immunopathol., 113: 339-347.
- Raharjo, H. M., H. Budiyanah, M. F. Mursalin, P. Chokmangmeepisarn, R. Sakulworakan, S. Madyod, M. Sewaka, M. Sonthi, P. P. Debnath, S. Elayaraja and T. Rung-ruangkijkrai (2022) Distribution of Vibrionaceae in farmed Asian sea bass, *Lates calcarifer* in Thailand and their high prevalence of antimicrobial resistance. Journal of fish diseases. 45.10.1111/jfd.13667.
- Rengpipat, S., T. Rueangruklikhit and S. Piyatitivorakul (2008) Evaluations of lactic acid bacteria as probiotics for juvenile seabass *Lates calcarifer*. Aquaculture Research, 39: 134-143.
- Tan, H. Y., S. W. Chen and S. Y. Hu (2019) Improvements in the growth performance, immunity, disease resistance, and gut microbiota by the probiotic *Rummeliibacillus stabekisii* in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*). Fish Shellfish Immunol., 92: 265-275.
- Taoka, Y., H. Maeda, J. Y. Jo, S. M. Kim, S. Park, T. Yoshikawa and T. Sakata (2006) Use of live and dead probiotic cells in tilapia *Oreochromis niloticus*. Fish. Sci., 72: 755-766.
- Waiyarnit P., M. A. Zoral, A. Saengtienchai, A. Luengnaruemitchai, O. Decamp, B. Gorgoglione and W. Surachetpong (2020) Probiotics Modulate Tilapia Resistance and Immune Response against Tilapia Lake Virus Infection. Pathogens., 6; 9(11): 919.
- Xia, Y., M. Lu, G. Chen, J. Cao, F. Gao, M. Wang, Z. Liu, D. Zhang, H. Zhu and M. Yi (2018) Effects of dietary *Lactobacillus rhamnosus* JCM1136 and *Lactococcus lactis subsp. lactis* JCM5805 on the growth, intestinal microbiota, morphology, immune response and disease resistance of juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Fish Shellfish Immunol., 76: 368-379.
- Zhou, X., Z. Tian, Y. Wang and W. Li (2009) Effect of treatment with probiotics as water additives on tilapia (*Oreochromis niloticus*) growth performance and immune response. Fish Physiology and Biochemistry., 36(3): 501-509.



# 養殖魚類投餵水產益健飼料 對降低體內病原菌之成效評估

劉佩玟、陳建彰、謝豐群、林佳勳、楊順德  
農業部水產試驗所淡水養殖研究中心

## 摘要

本水產益健飼料研究團隊自 2021 年於實驗室內進行短小芽孢桿菌 D5 (*Bacillus pumilus* D5) 對常見水產病原菌的抑制效果測試，試驗結果顯示 *B. pumilus* D5 以抑制弧菌及鏈球菌的效果較佳，另投餵吳郭魚含有 *B. pumilus* D5 之益健飼料，並以瓶鼻海豚鏈球菌 (*Streptococcus iniae*) 進行攻毒試驗，其累積存活率可高於對照組。本研究在業者的養殖場進行田間驗證，實際在環境因子較為複雜的現場，藉由在不同地域、水質及養殖操作人員的管理下，驗證水產益健飼料的實際抗病原能力以進行益健飼料的抗病原能力評估，試驗結果顯示，投餵益健飼料可以降低尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 及金目鱸 (*Lates calcarifer*) 體內的鏈球菌、弧菌與產氣單胞菌數量，進而減少罹患疾病的風險。

## 一、前言

近年因受到全球氣候變遷的影響，短期造成極端氣候例如連續高溫、瞬間暴雨、久未下雨等，長期則造成全球暖化，皆使的水產養殖業者在管理上遇到困境，而大多數水產細菌性病原屬於機緣性病原，且為環境中的常在菌，每種養殖動物都有其最適應的水溫，溫度若超出其身體所能負荷的極限，加上水質不良與環境中過多的病原存在，恐造成養殖生物罹患疾病 (Reverter et al., 2020; Sun et al., 2022)，而 Liao 等 (2020) 研究發現，吳郭魚對鏈球菌的感受度，會隨著溫度、紫外線以及降雨的上升而增加。根據財團法人台灣養殖漁業發展基金會 2023 年的

水生動物病例彙整統計資料，細菌性疾病以弧菌、鏈球菌、產氣單胞菌與努卡氏菌為主，在臺灣常見的弧菌有腸炎弧菌 (*Vibrio parahaemolyticus*)、創傷弧菌 (*V. vulnificus*)、溶藻弧菌 (*V. alginolyticus*)、哈威氏弧菌 (*V. harveyi*) 等 (Tey et al., 2015; Wu et al., 2016; Liu et al., 1996)，一般認為弧菌可活存於海水或半淡鹹水環境，以造成白蝦急性肝胰臟壞死綜合症 (AHPND) 的腸炎弧菌 (*V. parahaemolyticus*) 為例，除了在完全沒有添加氯化鈉 (NaCl) 及含有 9% NaCl 以上的胰蛋白酶大豆瓊脂 (Tryptone Soy Agar, TSA) 無法生長外，其餘鹽度皆可生長 (劉，2016)，而 Zaher 等 (2021) 指出腸炎弧菌 (*V. parahaemolyticus*)

會造成吳郭魚內臟出血及嚴重死亡，故抽取地下水養殖的吳郭魚，因遇久未下雨、地下水鹹化等因素造成池水鹽度上升，加上環境管理不佳或魚隻免疫力低下，也是有可能感染弧菌症的。常見的鏈球菌有無乳鏈球菌 (*Streptococcus agalactiae*)、瓶鼻海豚鏈球菌 (*S. iniae*)、乳酸鏈球菌 (*Lactococcus garvieae*)，感染鏈球菌的魚隻通常眼凸且白濁 (Liao et al., 2020)，鏈球菌通常好發季節為夏季 (7–9 月)，冬季增殖速度較慢，但隨著全球暖化影響，水溫上升可能使的鏈球菌的增殖速度增加，若未好養殖管理或操作不當，容易使魚隻感染鏈球菌症。產氣單胞菌常見的例如親水性產氣單胞菌 (*Aeromonas hydrophila*)，其容易於腸道內繁殖，造成出血性卡他性腸炎，並經由養殖魚類的腸道、池底沉積物及豐富有機體的池水中快速增殖傳播 (謝，2008)。綜合以上，絕大部分的致病菌為環境中機緣性病原，魚隻受到緊迫、環境驟變、水質底質不良等，容易使的魚隻對病原的感受性增加。除了可藉由養殖管理來改善外，大環境的氣候變遷雖難以改變，但可以從益生菌的使用著手，目前已有相當多的國內外研究指出可以藉由食用益生菌提升養殖生物免疫力與抑制病原菌 (Park et al., 2020; Cruz et al., 2012; 黃等 2016)，因此本研究團隊研發含有短小芽孢桿菌 D5 (*Bacillus pumilus* D5) 水產益健飼料，從實驗室規模至田間實際應用驗證，評估益健飼料在業界的使用成效，希望藉由益健飼料減緩細菌性疾病發生的機率，以及改善抗生素的使用。

## 二、水產益健飼料應用成效

### (一) 以含有 *B. pumilus* D5 飼料投餵吳郭魚之抑制病原菌成效

本研究試驗用魚隻為來自民間尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*) 水產養殖驗證場，樣本共來自 2 個不同場域，分別為臺南學甲及嘉義布袋，洽請民間養殖業者投餵益健飼料後，由淡水養殖研究中心 (以下稱本中心) 定期前往採樣進行病原菌培養分析。臺南學甲場細菌培養結果顯示 (表 1)，對照組腸道中鏈球菌、弧菌及產氣單胞菌平均數量分別為  $< 1.00 \times 10^1$  CFU/g、 $2.91 \times 10^7$  CFU/g 與  $1.26 \times 10^5$  CFU/g；試驗組鏈球菌、弧菌及產氣單胞菌數量則分別為  $< 1.00 \times 10^1$  CFU/g、 $7.25 \times 10^6$  CFU/g 與  $1.73 \times 10^4$  CFU/g，餵食益健飼料可減少 75% 弧菌數以及減少 86.3% 產氣單胞菌數。

表 1 臺南學甲吳郭魚驗證場之腸道平均病原菌菌數比較結果

	對照組	試驗組
鏈球菌(CFU/g)	$< 1.00 \times 10^1$	$< 1.00 \times 10^1$
弧菌(CFU/g)	$2.91 \times 10^7$	$7.28 \times 10^6$
產氣單胞菌(CFU/g)	$1.26 \times 10^5$	$1.73 \times 10^4$

嘉義布袋場細菌培養結果顯示 (表 2)，對照組腸道中鏈球菌、弧菌及產氣單胞菌平均數量分別為  $1.00 \times 10^3$  CFU/g、 $1.63 \times 10^3$  CFU/g 與  $1.16 \times 10^5$  CFU/g；試驗組鏈球菌、弧菌及產氣單胞菌數量則分別為  $1.78 \times 10^2$  CFU/g、 $2.67 \times 10^1$  CFU/g 與  $9.95 \times 10^3$  CFU/g，餵食益健飼料可減少 82.2% 鏈球



菌數、減少 98.4% 弧菌數以及減少 91.4% 產氣單胞菌數。

表 2 嘉義布袋吳郭魚驗證場之腸道平均病原菌菌數比較結果

	對照組	試驗組
鏈球菌(CFU/g)	$1.00 \times 10^3$	$1.78 \times 10^2$
弧菌(CFU/g)	$1.63 \times 10^3$	$2.67 \times 10^1$
產氣單胞菌(CFU/g)	$1.16 \times 10^5$	$9.95 \times 10^3$

## (二) 以含有 *B. pumilus* D5 飼料投餵金目鱸 (*Lates calcarifer*) 之抑制病原菌成效

本研究試驗用魚隻為來自本中心場內金目鱸驗證場 1 場及民間金目鱸水產養殖驗證場，民間樣本共來自 2 個不同場域，分別為臺南學甲及雲林麥寮。本中心場內金目鱸驗證場細菌培養結果顯示 (表 3、4)，投餵益健飼料 1 個月對照組的肝臟與腸道中

表 3 本中心金目鱸驗證場之平均鏈球菌菌數比較結果

	對照組	試驗組
肝臟(CFU/g)	$3.55 \times 10^4$	$2.93 \times 10^2$
腸道(CFU/g)	$2.35 \times 10^5$	$< 1.00 \times 10^1$

表 4 本中心金目鱸驗證場之平均弧菌菌數比較結果

	對照組	試驗組
肝臟(CFU/g)	$1.92 \times 10^3$	$< 1.00 \times 10^1$
腸道(CFU/g)	$4.52 \times 10^3$	$4.83 \times 10^1$

鏈球菌平均分別為  $2.35 \times 10^5$  CFU/g 與  $3.55 \times 10^4$  CFU/g；試驗組則分別為  $< 1.00 \times 10^1$  CFU/g 與  $2.93 \times 10^2$  CFU/g，餵食益健飼料可減少肝臟與腸道 99.17% 以上的鏈球菌。而在弧菌方面，則可減少 98.93% 以上的弧菌數。

雲林麥寮場細菌培養結果顯示，投餵益健飼料 2 個月對照組腸道中之平均鏈球菌  $6.7 \times 10^2$  CFU/g；試驗組則為  $1.35 \times 10^2$  CFU/g，可減少 79.85% 菌數。對照組肝臟與脾臟中之弧菌平均分別為  $7.15 \times 10^3$  CFU/g、 $4.07 \times 10^3$  CFU/g；試驗組則分別為  $8.67 \times 10^2$  CFU/g、 $3.17 \times 10^3$  CFU/g，可減少 22.11% 以上菌數。對照組腸道中之產氣單胞菌平均為  $4.98 \times 10^5$  CFU/g；試驗組則為  $5.37 \times 10^3$  CFU/g，餵食益健飼料可減少 98.92% 菌數。

臺南學甲場細菌培養結果顯示，對照組腸道中之平均弧菌  $1.73 \times 10^2$  CFU/g；試驗組則為  $< 1.00 \times 10^1$  CFU/g，可減少 94.2% 菌數。對照組肝臟與腸道中之產氣單胞菌平均分別為  $8.67 \times 10^1$  CFU/g、 $1.73 \times 10^3$  CFU/g；試驗組則分別為  $< 1.00 \times 10^1$  CFU/g、 $< 1.00 \times 10^1$  CFU/g，可減少 99.4% 以上菌數。

由於魚類生活在水中環境中，它們的體表會定期接觸到環境中的潛在病原菌，並且進食時攝入的水會將這些病原菌傳遞到胃腸道的黏膜表面，即使是海水魚魚苗期不需要攝食，也會因為需要調節滲透壓而喝水 (Tytler et al., 1988)，因此細菌也會從口進到腸道。一些病原菌會導致魚類腸道病理性變化，並在許多情況下成為全身感染的途徑。



病原菌進入到宿主體內後，其致病 (pathogenicity) 過程可略分為四個階段，依序為：(1)初始階段：病原體進入宿主環境，包括胃腸道；(2)指數增殖階段：病原體附著並定殖於腸道黏膜表面，繁殖到足夠數量並/或轉移至宿主腸上皮細胞 (enterocyte) 內；(3)穩定階段：病原體在宿主內複製並繞過宿主防禦系統。在此階段，宿主瀕臨死亡，隨後迅速進入死亡階段；(4)死亡階段：魚隻死亡 (Birkbeck et al., 2005)。

肝臟是魚類重要的免疫器官及保菌器官，研究顯示，哈維氏弧菌 (*V. harveyi*) 定殖在石斑魚肝臟中，會誘導肝腸免疫反應 (Gut-Liver Immune Response)，從而顯著干擾魚類腸道細菌群的組成和種間相互作用，改變了腸道微生物調節的功能，並導致魚類死亡 (Deng et al., 2020)。

因此，餵食益健飼料的目的在於避免病原菌數量過高，從而防止進入穩定階段，並降低細菌入侵其他臟器的機會，這樣一來，就不會超出魚隻對病原菌的容忍度，並最終導致死亡。由以上培菌結果顯示，試驗組普遍可以減少腸道中標的病原菌菌數八成以上。

### 三、病原菌調查結果

#### (一) 培養基上主要病原菌分析

本研究以選擇性培養基培養並經菌落計數後，自培養上分離純化出優勢菌落，經由商用細菌鑑定套組 API 20E 或 API 20 Strep 與 16s rRNA 定序顯示，正常的吳郭魚

與金目鱸中對照組與試驗組的鏈球菌皆以乳酸乳球菌 (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*) 與糞腸球菌 (*Enterococcus faecalis*) 為主要鏈球菌 (圖 1)，吳郭魚案例偶見無乳鏈球菌；正常吳郭魚與金目鱸中對照組與試驗組的產氣單胞菌皆以維隆產氣單胞菌 (*A. veronii*) 較為常見；其次為類志賀鄰單

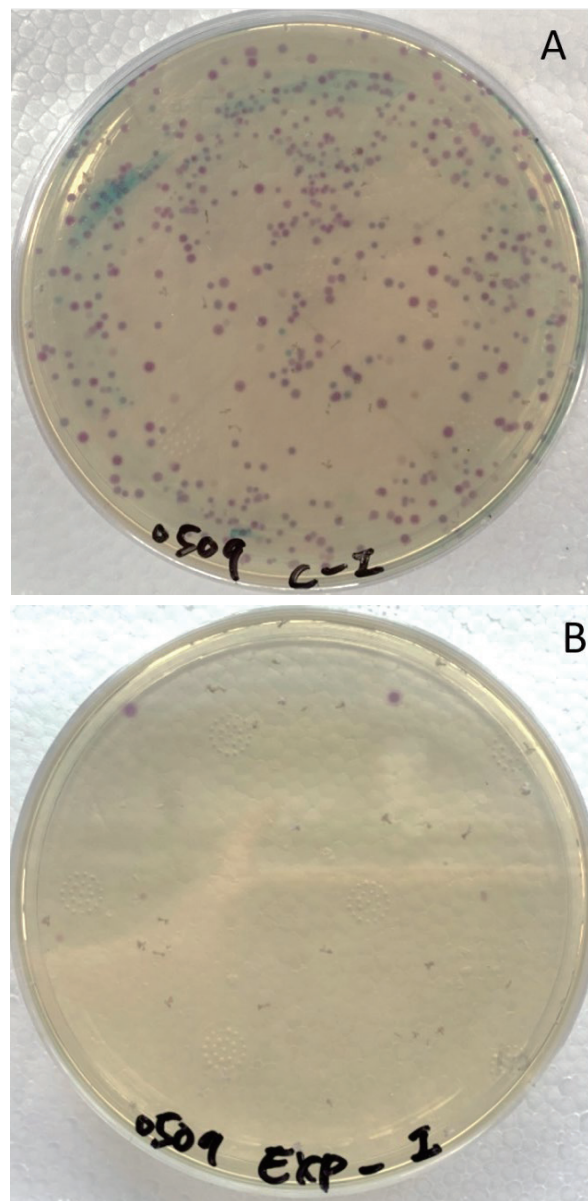


圖 1 魚的腸道鏈球菌培養狀況(A：對照組；B：試驗組)



胞菌 (*Plesiomonas shigelloides*)，弧菌則皆以霍亂弧菌 (*V. cholerae*) 較為常見。

乳酸乳球菌可在自然環境中生存，在過去通常做為益生菌使用，常被應用於乳製品生產 (Murray, 1990; Wichtel et al., 2003)，不過仍有文獻指出該菌會造成一些水產動物感染乳酸球菌感染症，例如造成淡水長臂大蝦的乳酸球菌感染症，病蝦肌肉呈現白濁，一般認為是由而乳酸鏈球菌感染，不過也有案例可在病蝦中分離出乳酸乳球菌。而將乳酸乳球菌以人工方式感染鱘龍魚與雜交吳郭魚，會使魚隻體表出血、腹脹與肛門紅腫等，並造成魚隻高死亡率 (Chen et al., 2012)。

糞腸球菌除了可在環境中長期存活外，在自然界中也可在動物腸道內共存，甚至在自糞便中分離出該菌，故稱之，而因其成長快速與不易受抗生素影響的特色，在過去常做為益生菌使用，應用於緩解細菌性腹瀉。但是近年發現，部分腸球菌屬的菌株具有萬古黴素 (vancomycin) 抗藥性的產生，萬古黴素通常是臨床上治療細菌的最後一道防線，因此衛福部公告限制「糞腸球菌 (*Enterococcus faecalis*)」及「屎腸球菌 (*Enterococcus faecium*)」未經確認其食用安全性前，不得作為食品原料使用，並自中華民國 108 年 7 月 1 日生效。而在水產養殖上，有研究學者以糞腸球菌對紅色吳郭魚進行攻毒試驗，造成鏈球菌感染症 (Streptococcosis)，病魚眼睛混濁、鰭基部出血、爛尾及下頷出現黑斑等症狀 (Rizkiantino et al., 2021)。

產氣單胞菌 (*Aeromonas* spp.) 為環境中常在菌，常見的病原菌有親水性產氣單胞菌、維隆產氣單胞菌與豚鼠產氣單胞菌 (*A. cavia*) 等，在水產養殖上會造成魚隻敗血症，例如親水性產氣單胞菌會造成鰻魚的赤鰭病，而在本研究分析結果中，自吳郭魚與金目鱸分離出的菌種以維隆產氣單胞菌為主，Aly 等 (2023) 指出，維隆產氣單胞菌會造成尼羅吳郭魚潰瘍症 (ulcerative syndrome)，感染的魚隻體表會出現潰瘍且爛鰭。

而淡水魚類的消化道中以腸內菌 (Enterobacteria) 中的種類最多，根據文獻指出，養殖尼羅吳郭魚腸道中的優勢菌相主要可分為兩群，其一是類志賀鄰單胞菌；另一是親水性產氣單胞菌 (Sakata et al., 1986)；而養殖鱸魚腸道中以鄰單胞菌屬 (*Plesiomonas*) 與鯨桿菌屬 (*Cetobacterium*) 為優勢菌種 (習, 2021)，因此使用益健飼料後，金目鱸與吳郭魚之體內優勢菌種並未有太大改變，且又可減少病原菌數量。

## (二) 病原菌藥物敏感性試驗分析

將所分離純化的病原菌參照 The Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI) 建議方法，並以 10 種水產抗生素進行敏感性試驗測試，結果顯示 (表 5-8)，自對照組與試驗組收集之產氣單胞菌屬多以氟滅菌 (flumequine)、氧四環黴素 (oxytetracycline)、氟甲磺氯黴素 (florfenicol)、脫氧氧四環黴素 (doxycycline) 與歐索林酸 (oxolinic acid) 等 5 種具藥物敏感性，紅黴素 (erythromycin)

表 5 自養殖現場收集之產氣單胞菌的藥物敏感性比例 (單位：%)

產氣單胞菌	UB30	MY15	OT30	FFC30	SP100	DO30	OA2	AMP10	E15	AML25
敏感性	100.00	0.00	70.00	70.00	8.33	86.67	100.00	0.00	16.67	8.33
中間敏感性	0.00	0.00	0.00	0.00	8.33	0.00	0.00	0.00	50.00	0.00
抵抗性	0.00	100.00	30.00	30.00	83.33	13.33	0.00	100.00	33.33	91.67

表 6 自養殖現場收集之鏈球菌的藥物敏感性比例 (單位：%)

鏈球菌	UB30	MY15	OT30	FFC30	SP100	DO30	OA2	AMP10	E15	AML25
敏感性	0.00	21.67	68.89	69.44	27.22	78.89	0.00	63.33	85.00	78.33
中間敏感性	0.00	0.00	5.00	20.56	47.22	5.00	0.00	31.11	5.00	0.00
抵抗性	100.00	78.33	26.11	10.00	25.56	16.11	100.00	5.56	10.00	21.67

表 7 自養殖現場收集之弧菌的藥物敏感性比例 (單位：%)

弧 菌	UB30	MY15	OT30	FFC30	SP100	DO30	OA2	AMP10	E15	AML25
敏感性	93.33	0.00	66.67	66.67	6.67	93.33	86.67	26.67	26.67	6.67
中間敏感性	0.00	0.00	6.67	6.67	6.67	6.67	0.00	0.00	66.67	0.00
抵抗性	7.00	100.00	26.67	26.67	86.67	0.00	13.33	73.33	6.67	93.33

表 8 自養殖現場收集之腸球菌的藥物敏感性比例 (單位：%)

腸球菌	UB30	MY15	OT30	FFC30	SP100	DO30	OA2	AMP10	E15	AML25
敏感性	0.00	0.00	20.00	10.00	0.00	73.34	0.00	36.67	46.67	53.34
中間敏感性	0.00	0.00	53.33	46.67	20.00	0.00	0.00	63.34	10.00	36.67
抵抗性	100.00	100.00	26.67	43.34	80.00	26.67	100.00	0.00	43.34	10.00

UB30 氟滅菌；MY15 林可黴素；OT30 經四環黴素；FFC30 氟甲磺氯黴素；SP100 史黴素；DO30 脫氧經四環黴素；OA2 歐索林酸；AMP10 安比西林；E15 紅黴素；AML25 安默西林





介在中間敏感性，林可黴素 (lincomycin)、史黴素 (spiramycin)、安比西林 (ampicillin) 與安默西林 (amoxicillin) 等共 4 種多具抵抗性；鏈球菌屬多以紅黴素 (erythromycin) 等共 6 種抗生素具藥物敏感性，並以氟甲磺氯黴素 (florfenicol) 等共 3 種具敏感性；腸球菌部分，多以脫氧經四環黴素 (doxycycline) 等 3 種抗生素仍具敏感性外，其餘 7 種抗生素大多具介在中間至抵抗性；弧菌部分，多以脫氧經四環黴素 (doxycycline) 等 6 種抗生素具有敏感性，紅黴素 (erythromycin) 介於中間敏感，其餘 4 種已具抵抗性。

細菌在抗藥性的機轉上，可分為天生具有抗藥性基因、細菌抗生素作用位點突變、藉由外排泵 (efflux pump) 將抗生素打出細菌細胞外以及細菌之間交換抗藥性基因，而目前研究發現，已有細菌可跨菌種交換抗藥性基因。根據本試驗自養殖現場所收集的糞腸球菌及屎腸球菌可知，10 種抗生素內已對 7 種具抵抗性，因此應減少其在池水與魚體中的數量，以降低抗藥性基因在細菌之間的交換，而試驗結果顯示，餵食益健飼料可降低弧菌、產氣單胞菌、鏈球菌以及腸球菌。

#### 四、結語

每一個場域的病原菌狀況會因為地域、季節與管理手法等不同而有所異，但綜觀實驗結果，以含有 *B. pumilus* D5 之益健飼料投餵吳郭魚與金目鱸，普遍都可降低魚

體中之鏈球菌、弧菌與產氣單胞菌數量，減少疾病爆發的風險，而魚隻爆發疾病的條件除了有病原菌的存在外，也與養殖管理及魚隻本身的健康狀態有關，使用益健飼料可提高魚隻免疫力，又可降低病原菌數量，再搭配良好的養殖管理才能提升整體效益 (圖 2)。使用益健飼料雖可以減少抗生素使用量，但在減少細菌抗藥性部分，較難在短時間之內有明顯差異，需經過長時間的管理與用藥習慣的改變進而改善，不過試驗結果顯示，益健飼料可以減少糞腸球菌的數量，可降低抗藥性基因跨菌種間的水平轉移之風險，整體而言對改善抗藥性細菌的產生有一定幫助。



圖 2 金目鱸驗證場平時投餵益健飼料，魚隻相較於未使用者較少爆發鏈球菌感染症

## 參考文獻

- 習孟祖 (2021) 鹽度對金目鱸 (*Lates calcarifer*) 腸道之菌相、細胞激素基因表現與組織構造的影響。國立中興大學生命科學系碩士論文, 18 pp。
- 黃美瑩、朱惠真、陳力豪、劉旭展、曾亮瑋、潘崇良、張錦宜 (2016) 飼料中添加益生菌 *Bacillus pumilus* D5 對於白蝦成長、免疫反應及抗腸炎弧菌效率之影響。水產研究, 24(2): 57-69。
- 劉佩姮 (2016) 造成白蝦急性肝胰臟壞死綜合症 (AHPND) 腸炎弧菌之病原性及毒力因子之探討。國立臺灣海洋大學水產養殖學系碩士論文, 21 pp。
- 謝嘉裕 (2008) 親水性產氣單胞菌。水生動物疾病診斷系統網站。農業部獸醫研究所。
- Aly, S. M., M. E. Abou-El-Atta, H. S. El-Mahallawy, A. Elasad, F. A. ElAbyad and N. Elbanna (2023) *Aeromonas veronii* and ulcerative syndrome in cultured Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) and their associated factors. Aquac. Int., 1-15.
- Birkbeck, T. H and E. Ringø (2005) Chapter 10 Pathogenesis and the gastrointestinal tract of growing fish. Biology of Growing Animals., 2: 208-234.
- Chen, M. H., S. W. Hung., C. L. Shyu., C. C. Lin., P. C. Liu., C. H. Chang., W. Y. Shia., C. F. Cheng., S. L. Lin., C. Y. Tu., Y. H. Lin and W. S. Wang (2012) *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* infection in Bester sturgeon, a cultured hybrid of *Huso huso* × *Acipenser ruthenus*, in Taiwan. Res. Vet. Sci., 93(2): 581-588.
- Cruz, P. M., A. L. Ibáñez, O. A. M. Hermosillo and H. C. S. Ramírez (2012) Use of Probiotics in Aquaculture. ISRN Mic., 2012(916845): 13.
- Deng, Y., Y. Zhang, H., Chen, L. Xu, Q. Wang and J. Feng (2020) Pathogenic Mechanisms of *Vibrio harveyi* in Pearl Gentian Grouper (*Epinephelus lanceolatus* ♂ × *E. fuscoguttatus* ♀). Front Immunol., 11: 607754.
- Liao, P. C., Y. L. Tsai, Y. C. Chen, P. C. Wang, S. C. Liu and S. C. Chen (2020) Analysis of Streptococcal Infection and Correlation with Climatic Factors in Cultured Tilapia *Oreochromis* spp. in Taiwan. Appl. Sci., 10(11): 4018.
- Liu, P. C., K. K. Lee, Y. K. Ching, G. H. Kou and S. N. Chen (1996) News & Notes: Isolation of *Vibrio harveyi* from Diseased Kuruma Prawns *Penaeus japonicus*. Curr. Microbiol., 33(2): 129-132.
- Murray, B. B (1990) The life and times of the Enterococcus. Clin. Microbiol. Rev., 3(1): 46-65.
- Park, Y., H. Kim, S. Won, A. Hamidoghli, T. H. Md, I. Kong and S. Bai (2020) Effects of two dietary probiotics (*Bacillus subtilis* or *licheniformis*) with two prebiotics (mannan or fructo oligosaccharide) in Japanese eel, *Anguilla japonica*. Aquac Nutr., 26(2): 316-327.
- Reverter, M., S. Sarter, D. Caruso, J. C. Avarre, M. Combe, E. Pepey, L. Pouyaud, S. Vega-Heredia, H. de Verdal and R. E. Gozlan (2020) Aquaculture at the crossroads of global warming and antimicrobial resistance. Nat Commun., 11(1): 1870.
- Rizkiantino, R., F. H. Pasaribu, R. D. Soejoedono, S. Purnama, D. B. Wibowo and I W. T. Wibawan (2021) Experimental Infection of *Enterococcus faecalis* in Red Tilapia (*Oreochromis hybrid*) Revealed Low Pathogenicity to Cause Streptococcosis. Open Vet J., 11(2): 309-318.
- Sakata, T. and Y. Koreeda (1986) A numerical taxonomic study of the dominant bacteria isolated from tilapia intestines. Bull. Jap. Socie. Sci. Fish., 52(9): 1625-1634.
- Sun, B., B. Sun, B. Zhang and L. Sun (2022) Temperature induces metabolic reprogramming in fish during bacterial infection. Fro. Imm., 13: 1010948.
- Tey, Y. H., K. J. Jong, S. Y. Fen and H. C. Wong (2015) Occurrence of *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio cholerae*, and *Vibrio vulnificus* in the Aquacultural Environments of Taiwan. J. Food Prot., 78(5): 969-976.
- Wichtel, M. E., S. G. Fenwick, J. Hunter, A. Stephenson, D. Martin and J. J. Wichtel (2003) Septicaemia and septic arthritis in a neonatal calf caused by *Lactococcus lactis*. Vet. Rec., 153(1): 22-23.
- Wu, Y. S., T. Y. Tseng and F. H. Nan (2016) Beta-1,3-1,6-glucan modulate the non-specific immune response to enhance the survival in the *Vibrio alginolyticus* infection of Taiwan abalone (*Haliotis diversicolor supertexta*). Fish Shellfish Immunol., 54: 556-563.
- Zaher, H. A., M. I. Nofal., B. M. Hendam., M. M. Elshaer., A. S. Alothaim and M. M. Eraqi (2021) Prevalence and Antibigram of *Vibrio parahaemolyticus* and *Aeromonas hydrophila* in the Flesh of Nile Tilapia, with Special Reference to Their Virulence Genes Detected Using Multiplex PCR Technique. Antibiotics (Basel), 10(6): 654.

# 添加海藻發酵物之水產益健飼料應用成效初探

黃侑勛<sup>1</sup>、李沛珊<sup>1</sup>、易琮凱<sup>2</sup>、蔡慧君<sup>2</sup>、何源興<sup>1</sup>

<sup>1</sup> 農業部水產試驗所東部漁業生物研究中心

<sup>2</sup> 農業部水產試驗所水產加工組

## 摘要

本篇研究團隊自 2021 年開始投入開發海木耳發酵物以應用於水產益健飼料，利用海木耳所含之海藻多醣作為水產動物之免疫刺激物，刺激水產動物的免疫系統，增強其對病原體的抵抗能力，另外亦有研究指出海藻多醣可以促進水產動物的生長，提高飼料效率、促進蛋白質和糖的代謝，本研究希望以海藻發酵物開發水產益健飼料，降低水產養殖過程中對抗生素的依賴，提高養殖魚隻的健康狀況和經濟效益，預期可以提高養殖魚隻的成長效果與抗病能力，從而有效地抑制疾病的發生與造成之損失，同時提升養殖魚隻的品質。在保證養殖魚隻健康和安全的同時，還可以為水產養殖產業的永續發展做出積極的貢獻。

因此，本研究以蘇氏海木耳 (*Sarcodia suae*) 配合本所加工組建立之發酵製程所生產之海木耳發酵物作為飼料添加物以開發益健飼料配方，增強七星鱸 (*Lateolabrax japonicus*) 及龍虎斑 (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*) 之非特異性免疫能力以對抗細菌性病原，降低養殖過程中因細菌性疾病所產生之死亡情形，開發益健飼料配方並且藉由實測示範場域之建置及養殖輔導，將本計畫之益健飼料配方推廣至養殖產業，最終達成建構安全且高效率的綠色水產養殖體系，促進水產養殖產業升級之目標。

## 一、前言

臺灣水產養殖產業的發展，除了石斑魚以外，鱸魚也是一個較大規模的養殖物種之一。其中，金目鱸 (*Lates calcarifer*) 和七星鱸 (*Lateolabrax japonicus*) 是鱸魚養殖的主要品種。根據 2022 年漁業統計年報，石斑魚年產量約 1.7 萬公噸，產值約新臺幣 41 億元，而鱸魚年產量與石斑魚相近約 2 萬 2 千公噸，產值約新臺幣 24 億元。然而，石斑魚和鱸魚養殖產業常常受到鏈球菌和弧菌等細菌性病原體的感染。這些病原體會

導致魚類的生長減緩、死亡率增加、食慾不振等問題，進而影響產量和經濟效益。隨著全球水產養殖產業的發展，越來越多的人們開始關注養殖業對環境和人類健康的影響。其中，用藥安全是水產養殖產業中的一個重要問題。由於石斑魚和鱸魚養殖產業受鏈球菌及弧菌感染影響，鏈球菌感染症主要好發於高水溫期，因此使用抗生素等藥物來預防和治療這些疾病已經成為許多養殖業者的常用方法。然而，這種做法不僅對環境產生負面影響，還可能導致食品中殘留抗生素等物質，對人類健康構成威脅。因此，減



少用藥並實現安全養殖已經成為養殖業可持續發展的重要目標之一。為了實現減少用藥安全養殖，已有養殖業者開始採取在飼料中加入天然的添加物如益生菌 (probiotics) 或藻類來提高魚類的免疫力和抗病能力。

目前，許多研究已經證明，添加一些天然的植物或海藻等成分可以幫助增強魚類的免疫力，降低養殖過程中出現疾病的風險。例如，添加紅藻粉、海藻粉、褐藻粉和海帶粉等成分，可以提高魚類的生長性能、食欲和腸道健康，並降低病原微生物的數量。此外，這些添加物還可以增加魚類的抗氧化能力和血清免疫球蛋白 (IgM) 含量，進一步增強魚類的免疫力。亦有許多免疫刺激物 (immunostimulant) 已被證實能有效的增強魚類免疫反應以及對傳染性疾病的抵抗能力，魚類經過投餵添加免疫啟動物的飼料，如由細菌細胞壁萃取的脂多醣 (lipopolysaccharide, LPS)、酵母菌之細胞壁萃取物葡聚多醣體 (葡聚多醣體胞壁萃取) 能有效增強其非特異性免疫功能 (Verlhac et al., 1996; Couso et al., 2003)；海藻多醣是海藻中的一種生物活性分子，被廣泛應用於水產養殖中，海藻多醣可以刺激水產動物的免疫系統，增強其對病原體的抵抗能力。多項研究顯示，海藻多醣可以促進水產動物的免疫細胞增殖和分化，增加免疫球蛋白的產生，並促進免疫相關基因的表達；另外亦有研究指出海藻多醣可以促進水產動物的生長，提高飼料效率、促進蛋白質和糖的代謝，例如 Zhang 等 (2020) 將不同濃度 (0、1、2 和 3%) 的海帶 (*Saccharina japonica*)

多醣添加到鯉魚 (*Cyprinus carpio*) 的飼料中，並在餵食後測量其生長表現、代謝酶活性和免疫反應等指標。該研究發現，在添加 2% 的海帶多醣後，鯉魚的平均體重增加率、特定生長率 (specific growth rate, SGR) 和肝臟脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 活性均有顯著提高。此外，添加海帶多醣還能夠增加鯉魚的血清總蛋白、球蛋白和免疫球蛋白的含量，並提高其肝臟抗氧化酶 (過氧化氫酶、超氧化物歧化酶以及麩胱甘肽過氧化物酶) 活性。該研究表明，海帶多醣能夠促進鯉魚的生長和代謝，並增強其免疫力和抗氧化能力，因此可以作為水產養殖中的一種有效添加物；Yan 等 (2016) 的研究探討了飼料中添加不同比例海木耳 (*Sarcodia montagneana*) 粉和魚粉對小龍蝦 (*Procambarus clarkii*) 生長的影響，與對照組相比，添加海木耳和魚粉的飼料可以顯著提高小龍蝦的體重、長度和特定生長率，另外，添加海木耳和魚粉的飼料可以顯著改善養殖水質，並提高小龍蝦的免疫力；Liu 等 (2017) 研究探討了添加不同比例的海木耳到白蝦 (*Penaeus vannamei*) 飼料中的效果。研究結果表明，添加適量的海木耳可以顯著提高白蝦的生長速度和活存率，並且可以提高其抗氧化酶活性；Liang 等 (2017) 研究結果表明，海藻粉作為飼料添加物，可以提高鱸魚的生長性能、免疫力和抗氧化能力。另外，該研究還指出，添加過高濃度的海藻粉可能會對魚類的生長和免疫系統產生負面影響，因此需要進一步探討最適宜的添加量；經由熱抽出物及酸鹼處理之褐藻



(*Undaria pinnatifida*)，其在歐洲鯉 (*Cyprinus carpio*) 對愛德華氏菌 (*Edwardsiella tarda*) 之抵抗實驗中，顯示具較高之活存率 (Fujiki et al., 1994)。近年來越來越多的研究表明，添加天然植物提取物等天然物質可以提高魚隻的免疫力和抗病能力，從而降低使用抗生素的需求，研究還發現添加海藻粉、褐藻粉等天然植物提取物可以增強魚隻的抗氧化能力和免疫力，降低高密度養殖下感染病原菌的風險。

綜上所述，為了降低水產養殖過程中對抗生素的依賴，提高養殖魚隻的健康狀況和經濟效益，我們需要在研究中進一步深入探索海木耳發酵物等飼料添加物的使用。在水產養殖飼料中添加這些天然物質，預期可以提高養殖魚隻的成長效果與抗病能力，從而有效地抑制疾病的發生與造成的損失，同時提升養殖魚隻的品質。在保證養殖魚隻健康和安全的同時，還可以為水產養殖產業的永續發展做出積極的貢獻。

因此本研究希望以蘇氏海木耳 (*Sarcodia suae*) 配合本所加工組建立之發酵製程 (圖 1) 所生產之海木耳發酵物作為飼料添加物以開發益健飼料配方，增強七星鱸及龍虎斑 (*Epinephelus fuscoguttatus* × *E. lanceolatus*) 之非特異性免疫能力以對抗細菌性病原，降低養殖過程中因細菌性疾病所產生之死亡情形，開發益健飼料配方並且藉由實測示範場域之建置及養殖輔導，將本計畫之益健飼料配方推廣至養殖產業，最終達成建構安全且高效率的綠色水產養殖體系，促進水產養殖產業升級之目標。

本研究將以目前臺灣水產養殖大宗物種七星鱸與龍虎斑作為研究對象，利用蘇氏海木耳搭配片球菌 (*Pediococcus pentosaceus* F1)，製作海木耳發酵物做為飼料添加物，試驗組添加不同濃度之海木耳發酵物，另外添加短小芽孢桿菌 D5 (*Bacillus pumilus* D5)，探討投餵不同試驗飼料後對七星鱸與龍虎斑之成長效果與非特異免疫能力之影響。

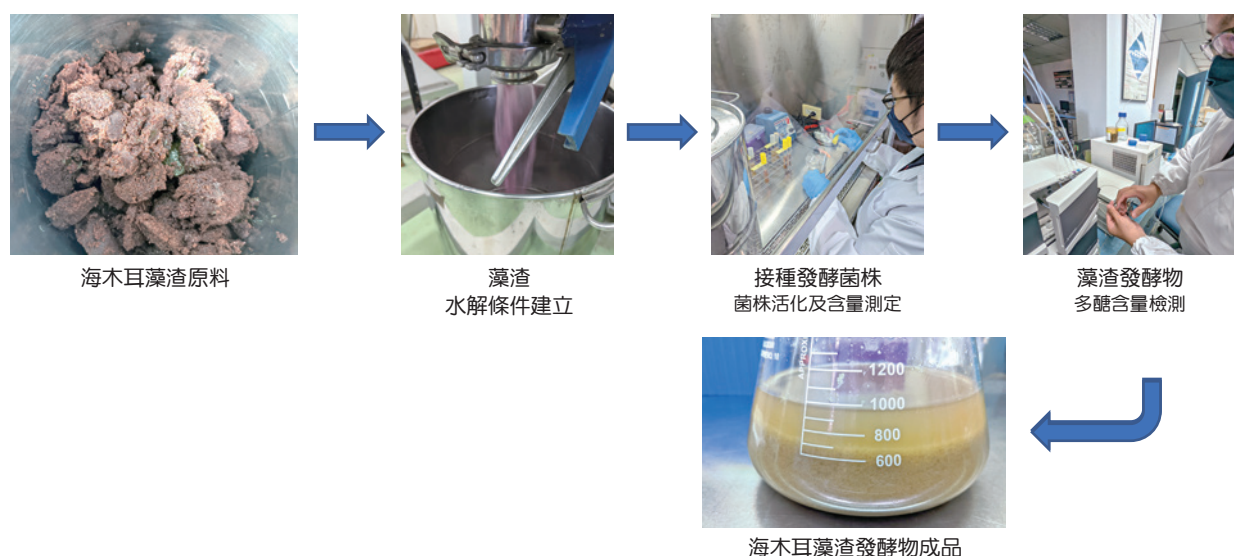


圖 1 海木耳發酵製程與品質分析

## 二、海藻發酵物簡介

### (一) 海藻應用歷史

水產養殖在亞洲已經有數千年歷史，臺灣則最早可追溯到 300 年前粗放式的虱目魚養殖，但規模和成效都很有限，直到 20 世紀開始建立現代化的水產養殖技術，才進入迅速發展階段，截止 2018 年全球水產養殖產量為 8,200 萬噸，佔總產量的 46% (FAO, 2020)。在養殖技術建立時，可以透過觀察目標魚種在自然環境中的飲食習慣來推算飼料配方，在此過程中發現海洋生物偶有噬咬大型藻類的習性，推測海藻中具有有利的潛在營養成分 (Wan et al., 2019)。

事實上，多篇國際養殖研究的報告中，皆提及適量的大型海藻攝入可以提升魚血中的抗氧化係數，並參與了針對病原菌與環境壓迫的幾項防禦機制 (Kasanah et al.,

2022; Thum et al., 2022)，而臺灣目前已知的海藻有 600 多種，其中包括綠藻 17 科 36 屬約 120 種，褐藻有 90 科 25 屬 85 種，紅藻有 40 科 125 屬約 300 種 (林等，2009)，尤以紅藻種類繁多。紅藻中的多醣以硫酸聚醣為主，其水解後具有刺激免疫細胞反應的作用，被認為極具開發潛力之水產原料，研究證實，紅藻中的海木耳水萃物，可促進鱸魚 (*Lates calcarifer*)、尼羅吳郭魚 (*Oreochromis niloticus*)、虹鱔 (*Oncorhynchus mykiss*) 等養殖魚種的免疫調節能力並提升白蝦對溶藻弧菌 (*Vibrio alginolyticus*) 的免疫力和抗病性 (Kiadaliri et al., 2020; Kuo et al., 2022; Lee et al., 2020)，在還原力分析上則顯示數個已建立養殖技術的海藻間，海木耳具有最好的抗氧化表現 (圖 2)，其作為益健藻源能更好的應對環境病原侵害。

### (二) 微生物與水產養殖

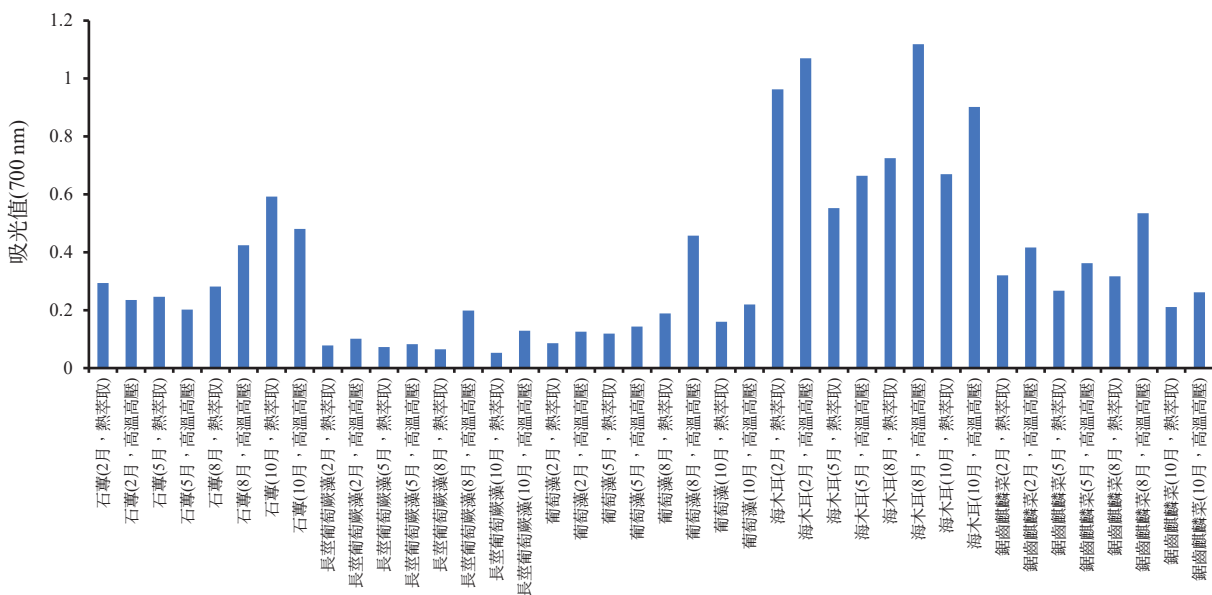


圖 2 各式養殖海藻的還原力分析





另一方面，種類繁多的水產益生菌同樣能協助養殖生物抵抗致病微生物，其中又以產乳酸的乳酸菌群為多數。究其歷史，自1857年巴斯德分離出乳酸菌以來，乳酸菌就作為人類腸道益生菌飲食補充的重要一環被使用與生產，而乳酸菌發酵優酪乳的食用歷史甚至可追溯到西元前3000年的游牧民族。乳酸菌等益生菌會抑制其他競爭菌株的生長，因此被認為具有穩定腸道菌相的作用，乳酸菌死亡後表面多醣與內部的短肽被釋放到腸道中，亦被指出具有促進消化、增強免疫等保健功效，如今各式產品已琳瑯滿目的充斥於市面上。而益生菌在水產養殖上的應用則較少被提及，Pérez-Alva 等 (2022) 研究指出，以微生物發酵海藻，可使藻類多醣支鏈上官能基暴露而提升其生理機能性，同時也反饋促進益生菌的生長，以乳酸菌作為發酵菌株時其發酵物同樣具有降低 pH 值的特性，能壓迫其他菌株的生長空間，同時部分二次代謝產物亦能達改善海藻風味之目的。

本試驗中所使用之主要發酵菌株為褐菖鮄 (*Sebastiscus marmoratus*) 腸道分離株 *Pediococcus pentosaceus* F1 以及短小芽孢桿菌 D5 (*Bacillus pumilus* D5)，依農牧字第1040043326A 號公告規範，可供給家畜、家禽、水產動物之飼料添加物，常用於乳品飼料產業，也在部分天然發酵的香腸、泡菜與酒類產品中被檢出。片球菌屬菌株會產生乳酸而被歸為乳酸菌的一員，因此其低 pH 值與所分泌的抑菌物質也可延長商品保存期限，Pato 等 (2022) 以 *P. pentosaceus* Strain

2397 代謝產物作為魚丸天然防腐劑，可以降低微生物污染，取代化學防腐劑的使用即利用此一原理，另 Li 等 (2022) 以 *P. pentosaceus* 發酵製備吳郭魚香腸，則著重介紹其代謝產物對風味物質的貢獻。以水產益生菌來看 *P. pentosaceus* SL001 能促進草魚 (*Ctenopharyngodon idella*) 的免疫力和生長性能 (Gong et al., 2019)。飼食含 *P. pentosaceus* 菌體代謝物飼料對鯉魚的生長及消化酶活性皆有所提升，能增加飼料效率 (feed efficiency, FE) (Ahmadifar et al., 2020)，對於片球菌提升養殖魚免疫表現的原因則主要貢獻於菌株對於非專一性免疫的促進，如 Xing 等 (2013) 以海鱸 (*Rachycentron canadum*) 腸道分離出的乳酸菌 *Pediococcus pentosaceus* LAB4012 菌株，經飼食及感染試驗證明，可有效幫助海鱸對抗發光桿菌 (*Photobacterium damsela* subsp. *piscicida*, Pdp)，但不會提升免疫魚的專一性抗體力價，王 (2014) 進一步探究 LAB4012 幫助海鱸對抗發光桿菌的方法，發現其對非專一性免疫具有促進影響，可降低魚隻死亡率。

### (三) 海藻發酵物優勢

目前以 F1 發酵海木耳，具有幾項競爭優勢，首先 F1 菌種擴培容易，僅 1 天即可達到目標生產菌量，並且 F1 菌株在發酵過程不需添加額外碳源，可全程在常溫下進行，對設備的需求低，另外其有效代謝產物不受熱破壞、穩定性高，可簡單導入現有的飼料產線中。一般藻類寡糖約由 3—15 單醣組成，分子量在 500—5,000 Da 間，被認為能幫助益生菌生長，而海木耳發酵物中寡糖

約佔 1/3，且組成糖分分析顯示多為半乳寡糖與木寡糖，皆為具有功能性之益生菌 (prebiotics)，有利於 F1 的生長與發酵。海木耳發酵物即使用海木耳中豐富的膳食纖維與寡糖作為益生質，並取菌體物質及其分泌物，作為後生元 (postbiotics) 來增加養殖非專一性免疫，同時海木耳多醣具有豐富的膳食纖維，可改善腸道經常性損傷與代謝的修復速度，並使厚度增加，從而增加營養吸收速率，促進飼料效率 (圖 3)。

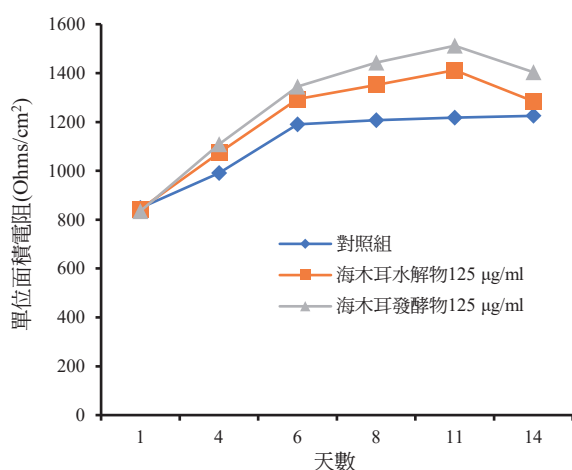


圖 3 以電阻分析海木耳發酵前後對腸道細胞厚度的影響

### 三、益健飼料應用成效

#### (一) 飼料中添加不同比例之蘇氏海木耳發酵物對七星鱸成長及非特異免疫反應之影響

試驗用之七星鱸魚苗購自民間養殖場，運送至本所東部漁業生物研究中心蓄養 2 週，進行隔離檢疫及馴餌後，隨機分為 5 組，每組 30 尾三重複，總計使用 450 尾七星鱸魚苗。試驗期間為 12 週，試驗期間內投餵飼料之組成如表 1，每 4 週收集體重資料做為成長表現之參考依據，並於試驗結束後收集魚隻之超氧歧化酵素活性 (superoxide dismutase activity, SOD activity) 以及溶菌酶 (lysozyme) 活性等各項免疫指標數值，用以比較飼料中添加海木耳發酵物對七星鱸成長效果及非特異性免疫能力之影響。成長效果及各項指標數據以 SPSS 軟體 (12.0.1C, 2000) 進行統計分析，並以 ANOVA (analysis of variance) 法探討各組樣品間是否具有顯著差異，當 F 值為顯著

表 1 七星鱸飼料一般成分

樣品名稱	水分(%)	蛋白質(%)	粗脂肪(%)	粗纖維(%)	粗灰分(%)	鹽酸不溶物(%)
對照組	5.52±0.02	45.16±0.01	15.81±0.48	0.80±0.10	12.12±0.05	0.62±0.05
A	2.32±0.04	46.45±0.06	15.52±0.20	0.80±0.07	12.60±0.03	0.67±0.03
B	2.24±0.05	45.79±0.15	17.00±0.59	0.84±0.07	12.63±0.08	0.67±0.03
C	2.48±0.12	45.88±0.42	15.82±0.53	0.81±0.10	12.71±0.02	0.71±0.02
D	2.49±0.12	45.36±0.41	16.56±0.60	0.77±0.04	12.66±0.13	0.78±0.08

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體



時，再以 Duncan's test 測定組與組間差異顯著性， $p < 0.05$  即視為具顯著性差異。

成長表現結果如表 2 顯示，初重約 97.19 g 約如成長效果的七星鱸魚苗，在投餵對照組及試驗飼料 12 週後，體重以添加 0.4% 海藻組最佳，為  $206.4 \pm 9.24$  g；增重率 (percent weight gain, PWG) 部分，在投餵 12 週後以 0.4% 海藻組最佳，為  $113.24 \pm 10.96\%$ ，且試驗組各組數據均顯著優於對照組之  $85.67 \pm 6.15\%$ ；特定生長率部分，在投餵 12 週後以添加 0.4% 海藻組最佳，為  $0.90 \pm 0.06\%$ ，且試驗組各組數據顯著優於對照組之  $0.74 \pm 0.04$ ；活存率部分，試驗期間以對照組的活存表現較差，活存率僅  $82 \pm 2\%$ ，其餘試驗各組活存率均有 96—97%；飼料轉換率 (FCR) 以添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組  $0.79 \pm 0.17$  為最佳，其餘各組亦顯著優於對照組之  $1.20 \pm 0.24$ 。

非特異免疫能力各項數據部分，如圖 4 所示，吞噬細胞活性以添加 0.2% 海藻及

0.4% 海藻投餵 4 週後之  $156.71 \pm 8.00\%$  與  $112.52 \pm 9.22\%$  為最佳，顯著優於對照組之  $89.18 \pm 4.77\%$ ；溶菌酶活性 (圖 5) 以添加 0.2% 海藻組與添加 0.4% 海藻及 0.1% D5 組在投餵 4 週後之  $297.26 \pm 16.98\%$  與  $317.12 \pm 7.44\%$  為最佳，且試驗各組數據均顯著優於對照組之  $117.02 \pm 8.11\%$ ；超氧歧化酶濃度 (SOD) (U/ml) (圖 6) 以添加 0.4% 海藻組與添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組在投餵 8 週後所得之  $50.15 \pm 1.55\%$  與  $53.48 \pm 1.10\%$  為最佳，且顯著優於對照組之  $25.48 \pm 0.60\%$ ；穀胱甘肽濃度 (GPx) (Units/ml) (圖 7) 以添加 0.4% 海藻組添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組與添加 0.4% 海藻及 0.1% D5 組在投餵 12 週後之  $2.67 \pm 0.03\%$ 、 $2.45 \pm 0.02\%$  及  $2.33 \pm 0.02\%$  較佳，並顯著優於對照組之  $2.05 \pm 0.01\%$ 。

Cook 等 (2003) 指出在適合金赤鯛 (*Pagrus auratus*) 生長之  $24^{\circ}\text{C}$  水溫環境下投餵含有 0.1% 由酵母菌 (*Saccharomyces*

表 2 七星鱸成長表現

七星鱸	初 重(g)	末 重(g)	增重率(%)	特定生長率(%/day)	活存率(%)	飼料轉換率
對照組	$98.40 \pm 9.22$	$182.4 \pm 16.26$	$85.67 \pm 6.15^b$	$0.74 \pm 0.04^b$	$82 \pm 2^b$	$1.20 \pm 0.24^b$
A	$99.71 \pm 5.71$	$199.0 \pm 10.32$	$100.55 \pm 18.73^{ab}$	$0.82 \pm 0.11^{ab}$	$97 \pm 1^a$	$0.90 \pm 0.09^{ab}$
B	$97.19 \pm 8.78$	$206.4 \pm 9.24$	$113.24 \pm 10.96^a$	$0.90 \pm 0.06^a$	$97 \pm 1^a$	$0.79 \pm 0.17^a$
C	$98.40 \pm 9.22$	$198.8 \pm 8.47$	$103.24 \pm 15.49^{ab}$	$0.84 \pm 0.09^{ab}$	$96 \pm 2^a$	$0.84 \pm 0.06^a$
D	$99.98 \pm 6.14$	$204.4 \pm 8.02$	$104.73 \pm 5.40^{ab}$	$0.85 \pm 0.03^{ab}$	$97 \pm 1^a$	$0.90 \pm 0.06^a$

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異



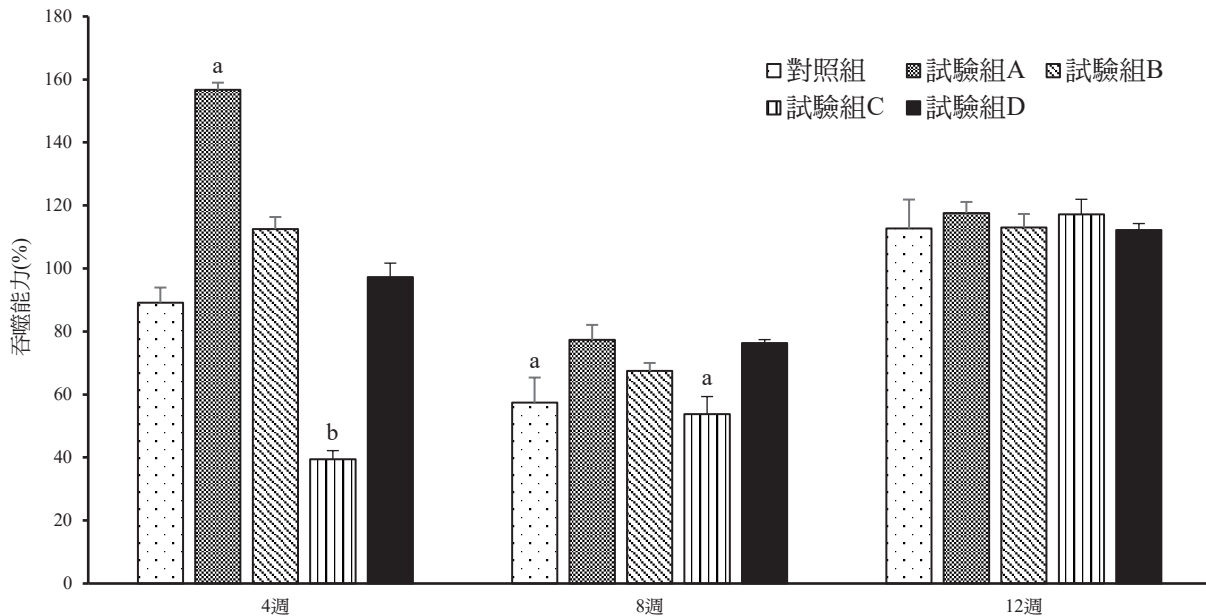


圖 4 七星鱧頭腎巨噬細胞吞噬能力

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異

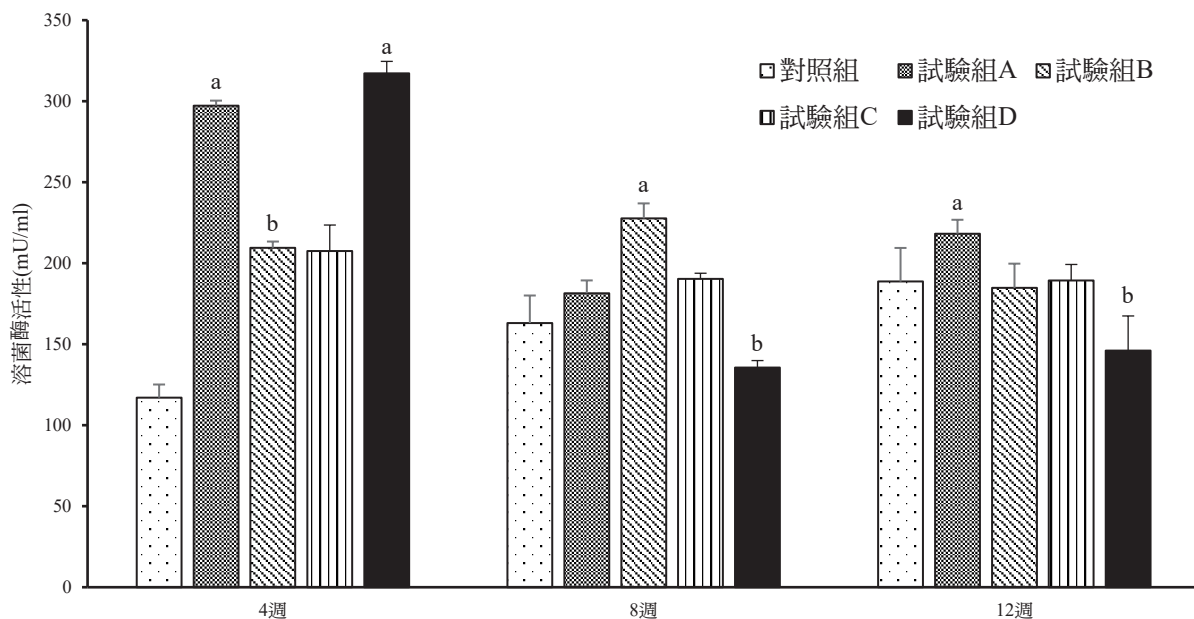


圖 5 七星鱧血清溶菌酶活性

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異

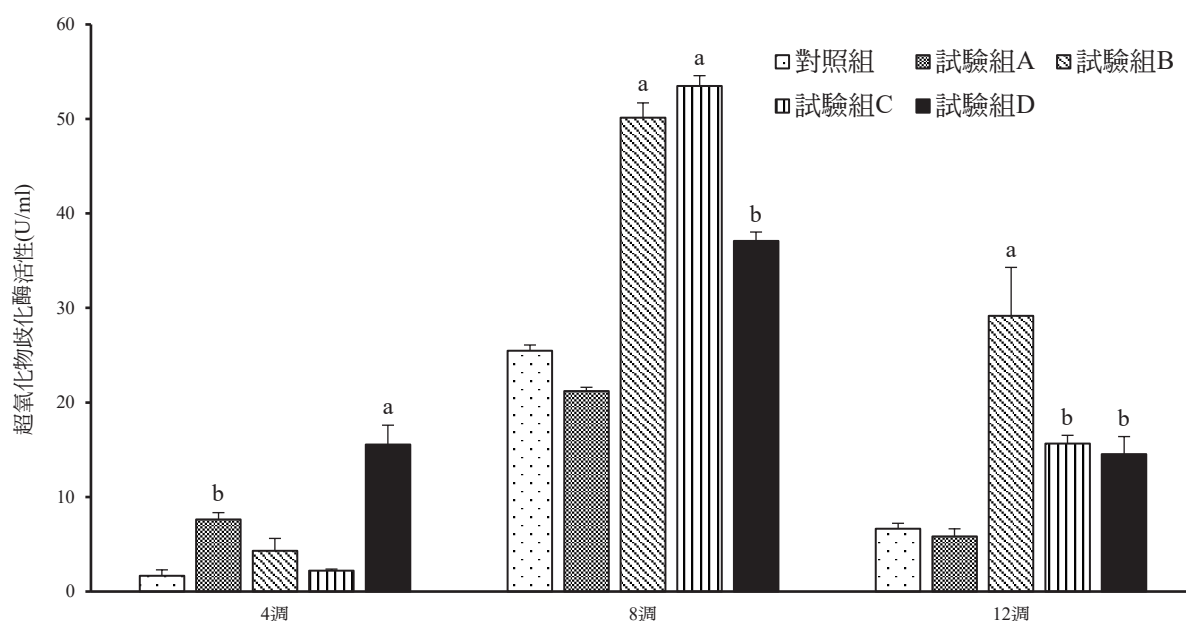


圖 6 七星鱧血清超氧化物歧化酶活性

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異

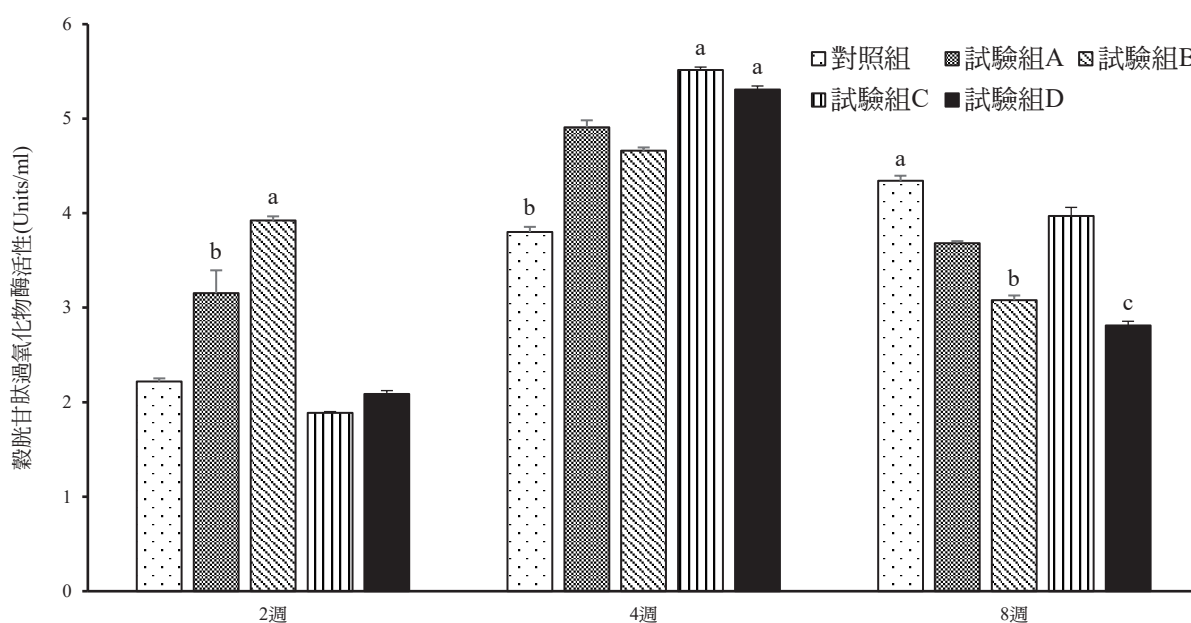


圖 7 七星鱧血清穀胱甘肽過氧化物酶活性

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異

*cerevisiae*) 萃取之葡聚多醣體對其增重率並無顯著差異影響，然而在金赤鯛生長緩慢的 12°C 低水溫環境中給予含有葡聚多醣體之飼料則可顯著提升其增重率；Liang 等 (2017) 研究結果顯示，添加 2.5% 海藻粉到飼料中可以最大程度的提高鱸魚之生長速度、增加體重和食慾，而添加 5% 海藻粉可以增加鱸魚的免疫力。此外，添加海藻粉還可以顯著提高鱸魚的超氧化物歧化酶和過氧化物酶活性，降低其丙二醛和過氧化氫水準。該研究結果表明，海藻粉可以作為一種有效的飼料添加物，可以提高鱸魚的生長性能、免疫力和抗氧化能力；Kanagaraj 等 (2018) 研究顯示，在七帶石斑魚 (*Epinephelus septemfasciatus*) 飼料中添加海帶和紫菜能夠顯著提高魚類的生長性能和免疫功能，因為添加海帶和紫菜可以增加飼料的纖維含量和礦物質含量，並增加飼料中的多醣類含量。此外，添加海帶和紫菜還可以增加魚體內的免疫球蛋白濃度和抗氧化酶活性。研究還發現，飼料中添加不同比

例的海帶和紫菜對魚類的生長和免疫功能有不同的影響，其中添加 5% 海帶和紫菜的飼料可以獲得最佳效果。綜合以上研究結果與本實驗結果符合，飼料中添加 0.2 – 0.4% 之海木耳藻渣發酵物確實可有效提升七星鱸之成長效果以及非特異免疫能力之數值。

## (二) 飼料中添加不同比例之蘇氏海木耳發酵物對龍虎斑成長及非特異免疫反應之影響

試驗用之龍虎斑魚苗購自民間養殖場，運送至本所東部漁業生物研究中心蓄養 2 週，進行隔離檢疫及馴餌後，隨機分為 5 組，每組 50 尾 3 重複，總計使用 750 尾龍虎斑魚苗。投餵飼料之組成如表 3，試驗期間為 8 週，試驗期間結束後收集體重資料做為成長表現之參考依據，並收集魚隻之超氧歧化酵素活性以及溶菌酶活性等各項免疫指標數值，用以比較飼料中添加海木耳發酵萃取物對龍虎斑成長效果及非特異性免疫能力之影響。

表 3 龍虎斑飼料一般成分

樣品名稱	水分(%)	蛋白質(%)	粗脂肪(%)	粗纖維(%)	粗灰分(%)	鹽酸不溶物(%)
對照組	3.16±0.02	47.93±0.55	7.56±0.03	0.72±0.08	15.9±0.03	0.65±0.04
A	1.67±0.46	48.61±0.13	7.57±0.29	0.79±0.20	15.67±0.05	0.75±0.29
B	1.41±0.08	46.68±0.24	6.79±0.23	0.96±0.07	14.36±0.08	0.63±0.06
C	1.60±0.04	48.27±0.08	8.08±0.27	0.70±0.00	15.64±0.17	0.52±0.18
D	3.21±0.02	48.42±0.51	8.08±0.05	1.44±0.20	15.97±0.02	0.60±0.03

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體





成長表現結果如表 4 顯示，初重約  $16.2 \pm 1.15$  g 的龍虎斑魚苗，在投餵對照組及試驗飼料 8 週後，體重以添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組最佳，為  $38.86 \pm 5.37$  g；增重率部分，在投餵 8 週後，添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組與添加 0.4% 海藻及 0.1% D5 組分別為  $151.77 \pm 3.82\%$  及  $142.48 \pm 4.02\%$ ，且試驗組各組數據均顯著優於對照組之  $92.22 \pm 2.52\%$ ；特定生長率部分，在投餵 8 週後以添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組與添加 0.4% 海藻及 0.1% D5 組最佳，為  $1.09 \pm 0.18\%$  及  $1.04 \pm 0.20\%$ ，且試驗組各組數據顯著優於對照組之  $0.77 \pm 0.16\%$ ；活存率部分，試驗期間以對照組的活存表現稍差，活存率僅  $94 \pm 2\%$ ，其餘試驗各組活存率均有 96—97%，但各組之間無顯著差異；飼料轉換率以添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組的  $1.00 \pm 0.24\%$  為最佳，其餘各組亦顯著優於對照組之  $1.53 \pm 0.71\%$ 。

非特異免疫能力各項數據部分，如圖 8 所示，吞噬細胞活性以添加 0.2% 海藻組、

添加 0.4% 海藻組與添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組投餵 4 週後之  $118.58 \pm 5.75\%$ 、 $116.09 \pm 5.30\%$  及  $117.43 \pm 1.74\%$  為最佳，顯著優於對照組之  $109.06 \pm 2.35\%$ ；溶菌酶活性（圖 9）以添加 0.4% 海藻組、添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組與添加 0.4% 海藻及 0.1% D5 組在投餵 4 週後之  $147.48 \pm 13.06\%$ 、 $129.97 \pm 10.48\%$  及  $140.63 \pm 4.69\%$  為最佳，且試驗各組數據均顯著優於對照組之  $85.43 \pm 5.02\%$ ；超氧歧化酶濃度（圖 10）（U/ml）以添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組與添加 0.4% 海藻及 0.1% D5 組在投餵 4 週後所得之  $591.63 \pm 35.99\%$  及  $580.35 \pm 69.96\%$  為最佳，且顯著優於對照組之  $358.76 \pm 36.18\%$ ；穀胱甘肽濃度（圖 11）以添加 0.2% 海藻及 0.1% D5 組與添加 0.4% 海藻及 0.1% D5 組在投餵 4 週後之  $5.52 \pm 0.03\%$  及  $5.31 \pm 0.04\%$  較佳，並顯著優於對照組之  $3.80 \pm 0.24\%$ 。

Chen 等 (2017) 研究指出，將 2% 海帶粉添加到點帶石斑 (*Epinephelus coioides*)

表 4 龍虎斑成長表現

龍虎斑	初 重(g)	末 重(g)	增重率(%)	特定生長率(%/day)	活存率(%)	飼料轉換率
對照組	$16.8 \pm 1.64$	$29.83 \pm 5.54$	$92.22 \pm 2.52^b$	$0.77 \pm 0.16^b$	$94 \pm 20^a$	$1.53 \pm 0.71^b$
A	$16.4 \pm 1.85$	$37.43 \pm 4.96$	$138.47 \pm 2.37^a$	$1.03 \pm 0.12^a$	$97 \pm 10^a$	$1.10 \pm 0.27^a$
B	$16.9 \pm 2.01$	$35.29 \pm 3.90$	$117.69 \pm 2.01^{ab}$	$0.92 \pm 0.12^{ab}$	$97 \pm 10^a$	$1.22 \pm 0.26^a$
C	$16.2 \pm 1.15$	$38.86 \pm 5.37$	$151.77 \pm 3.82^a$	$1.09 \pm 0.18^a$	$97 \pm 10^a$	$1.00 \pm 0.24^a$
D	$16.5 \pm 1.37$	$37.86 \pm 4.34$	$142.48 \pm 4.02^a$	$1.04 \pm 0.20^a$	$96 \pm 10^a$	$1.04 \pm 0.22^a$

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異

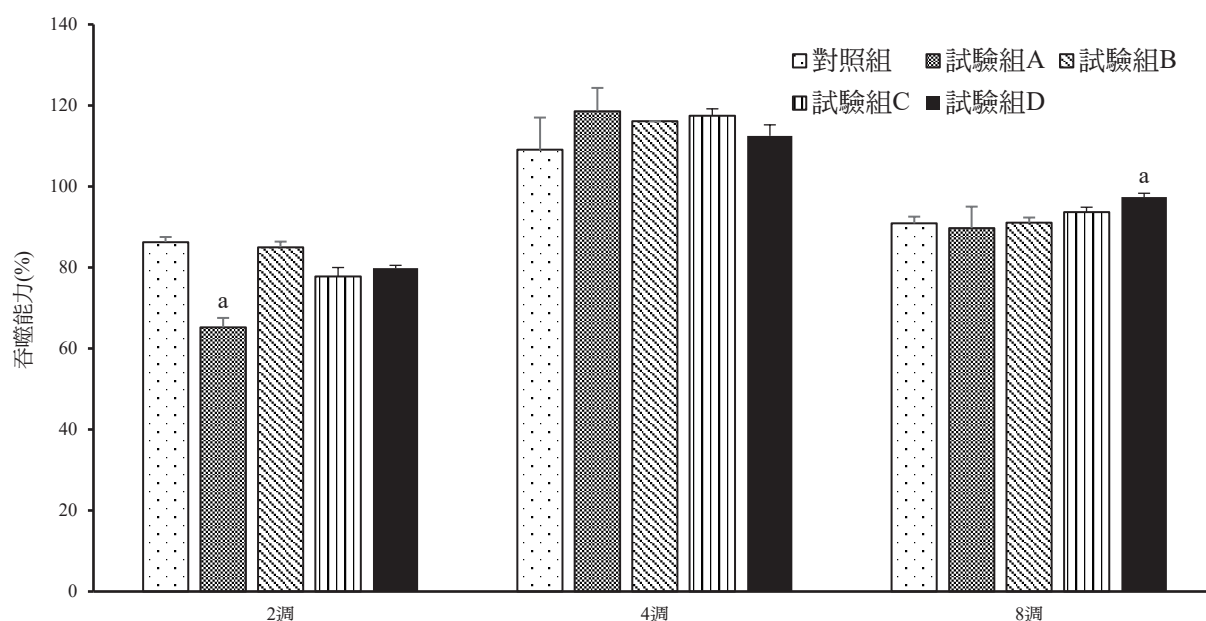


圖 8 龍虎斑頭腎巨噬細胞吞噬能力

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異

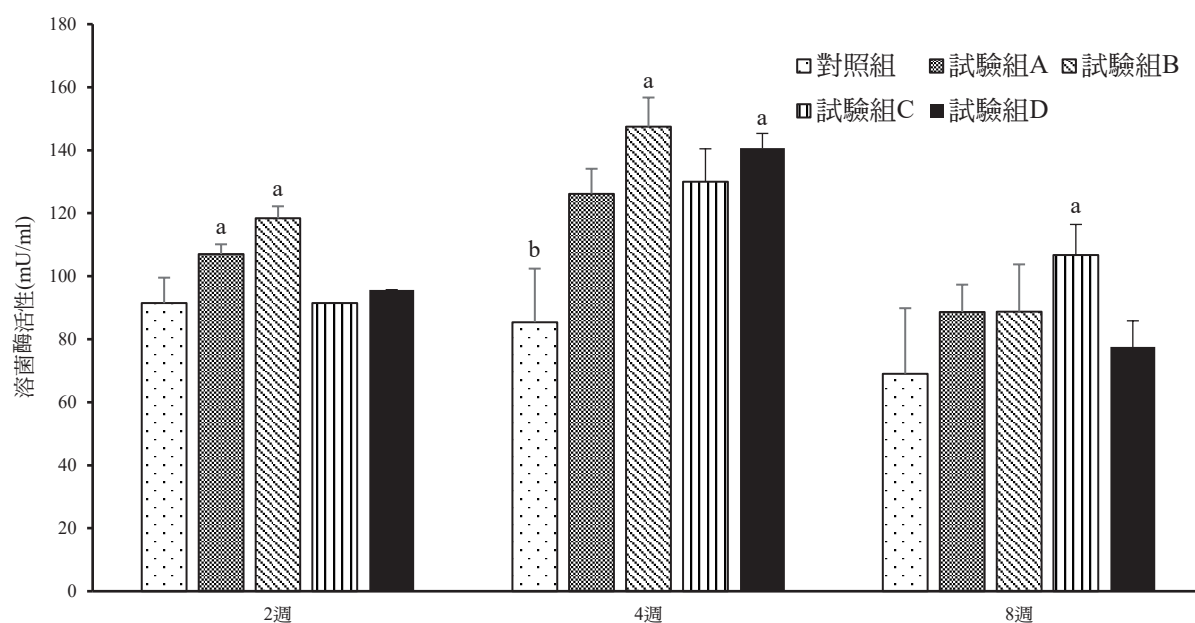


圖 9 龍虎斑血清溶菌酶活性

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異

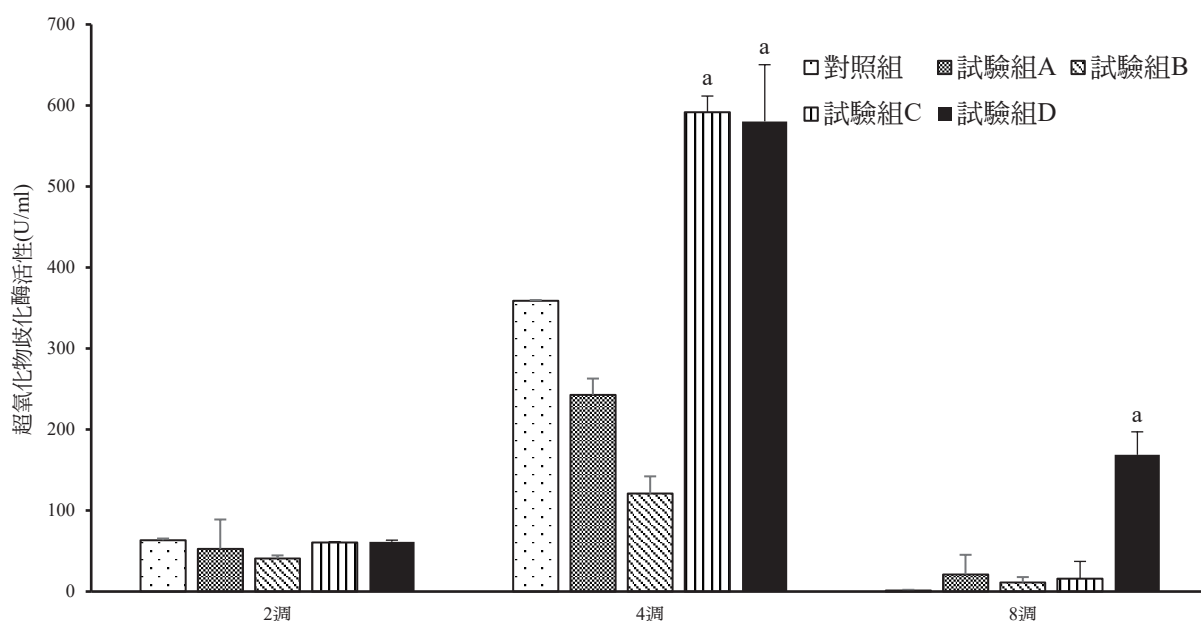


圖 10 龍虎斑血清超氧化物歧化酶活性

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異

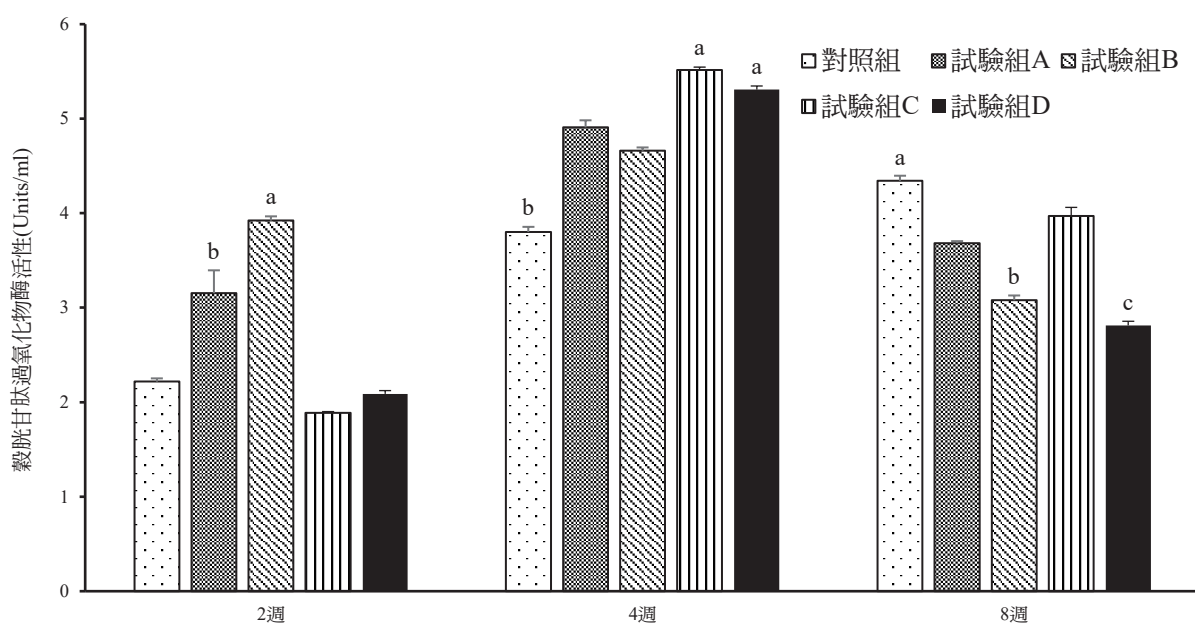


圖 11 龍虎斑血清穀胱甘肽過氧化物酶活性

試驗組 A 添加 0.2% 海藻、試驗組 B 添加 0.4% 海藻、試驗組 C 添加 0.2% 海藻及 0.1% D5、試驗組 D 添加 0.4% 海藻及 0.1% D5；每組樣品數取自 6 隻不同個體；數據以 SPSS 軟體進行統計分析，探討各組間是否具有顯著差異，統計結果以符號表示，不同符號代表彼此間具有顯著差異



的飼料中可以顯著提高其生長性能和魚肉品質。研究人員將海帶粉添加在石斑魚的飼料中，探討了添加不同濃度的海帶粉對石斑魚生長性能和肉質品質的影響。結果顯示，添加海帶粉可以顯著提高石斑魚的生長速度、體重增加和飼料轉化率，並且可以提高其肉質品質；Liu 等 (2017) 研究中，將不同比例的褐藻粉添加到鱸魚的飼料中，以評估其對魚的生長、免疫和疾病抗性的影響。結果顯示，添加 5% 的褐藻粉可以顯著提高石斑魚的生長率和活存率。此外，與對照組相比，添加 5% 的褐藻粉還可以增強魚的免疫系統，包括提高血漿中的免疫球蛋白和抗氧化酶活性。另外，添加褐藻粉亦可以增強魚對親水性產氣單胞菌 (*Aeromonas hydrophila*) 感染的抵抗力；Yang 等 (2016) 發現在點帶石斑的飼料中添加紅藻粉可以改善石斑魚的免疫系統和消化酶活性，同時也可以增加石斑魚血漿中的免疫球蛋白含量。研究人員探討添加不同濃度 (0、1、2、4、8%) 的龍鬚菜 (*Gracilaria lemaneiformis*) 對石斑魚幼魚的影響。結果顯示，添加 2% 的龍鬚菜可以顯著提高石斑魚的抗氧化酶活性和腸道消化酶活性，同時也可以增加石斑魚血漿中的免疫球蛋白含量；Shi 等 (2019) 將不同濃度 (0、2、4%) 的海藻粉添加到吳郭魚的飼料中，並觀察了其對魚類生長和免疫指標的影響。研究結果顯示，與對照組相比，添加 2% 和 4% 的海藻粉顯著提高了吳郭魚的體重增加率和特定生長率。同時，添加 2% 和 4% 的海藻粉也可以增加血清免疫球蛋白含量和白細胞計

數，並提高魚體的抗氧化能力；Zhang 等 (2018) 評估添加不同濃度的褐藻粉 (1、2、3%) 對草魚生長性能、腸道健康和病原微生物數量的影響。研究結果顯示，添加 1、2、3% 的褐藻粉可以顯著提高草魚的生長性能，並降低腸道中弧菌屬細菌的數量。同時，添加褐藻粉還可以促進腸道健康，包括增加腸道壁厚度、腸道上皮細胞高度和腸道酶活性；Shang 等 (2020) 探討添加海帶多醣對黑鯛 (*Acanthopagrus schlegelii*) 生長和免疫力的影響，記錄了黑鯛的體重、特定生長率和肝臟 FAS 活性等指標，同時測定了血清中 IgM 和補體 C3 的水準以及肝臟免疫相關基因和抗氧化酶活性的變化情況。結果顯示，與對照組相比，添加 1% 的海帶多醣可以顯著提高黑鯛的生長率和特定生長率。同時，海帶多醣還能促進免疫系統的功能，增加血清 IgM 和補體 C3 水準，並提高肝臟中免疫相關基因的表達水準。此外，添加海帶多醣還能提高黑鯛肝臟中抗氧化酶活性。綜合以上研究結果與本實驗結果符合，飼料中添加 0.2–0.4% 之海木耳藻渣發酵物確實可有效提升龍虎斑之成長效果以及非特異免疫能力之數值。

## 四、結語

本所經多年試驗，開發多種如益生菌及海木耳發酵物等天然飼料添加物，希望可以為水產養殖產業的永續發展做出積極的貢獻 (圖 12)。綜合上述試驗數據，推論於一般飼料中添加海木耳發酵萃取物對七星鱸

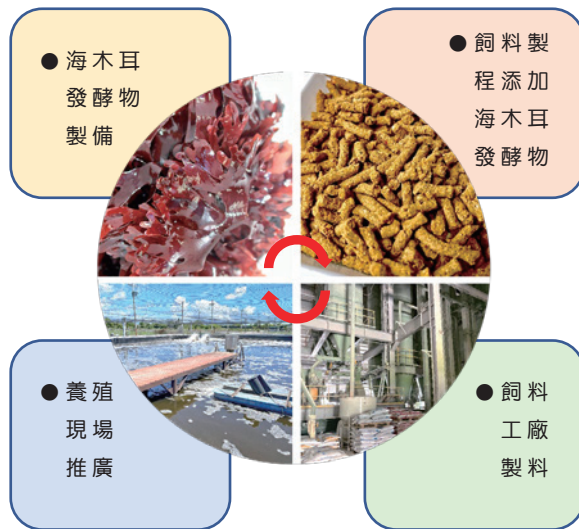


圖 12 海木耳發酵物擴散模式

及龍虎斑之成長效果有顯著影響，且確可顯著提升七星鱸與龍虎斑之非特異免疫能力；另外本計畫試驗結果顯示在飼料中添加海木耳發酵萃取物及 D5 益生菌，可有效提升七星鱸及龍虎斑之成長效果與非特異免疫能力，並不會產生拮抗作用，但考慮添加物均會增加養殖成本之因素，建議可選擇添加海木耳藻渣發酵物，添加濃度為 2 g/kg 飼料，且投餵 4—8 週即可有效提升成長效果及免疫指標數據。

本研究團隊將持續以蘇氏海木耳之藻類發酵物作為飼料添加物開發益健飼料配方，應用於增強七星鱸、龍虎斑及其他更多水產養殖物種之非特異性免疫能力以對抗細菌性病原，降低養殖過程中因細菌性疾病所產生之死亡情形，開發益健飼料配方並且藉由實測示範場域之建置及養殖輔導，將本計畫之益健飼料配方推廣至養殖產業，最終達成建構安全且高效率的綠色水產養殖體系，促進水產養殖產業升級之目標。

## 參考文獻

- 水產試驗所 (2001) 雲嘉地區主要魚貝類繁殖技術彙集。行政院農業委員會水產試驗所，基隆。
- 王佑民 (2014) 餵食乳酸菌 LAB4012 菌株對海鱸成長與非專一性免疫的影響。國立臺灣大學生命科學系碩士論文，50 pp。
- 林綉美、黃淑芳、江宜儒、梅台星、李孟洋、劉麗嘉 (2009) 台灣大型底棲海藻誌。國立臺灣海洋大學海洋生物研究所，行政院國家科學委員會補助專題研究計畫，11 pp。
- 漁業署 (2021) 中華民國臺灣地區漁業統計年報。行政院農業委員會漁業署，台北。
- Ahmadifar, E., T. H. Sadegh, M. A. O. Dawood, M. Dadar and N. Sheikhzadeh (2020) The effects of dietary *Pediococcus pentosaceus* on growth performance, hemato-immunological parameters and digestive enzyme activities of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture*, 561: 734656.
- Ai, Q., K. Mai, H. Li, C. Zhang, L. Zhang, Q. Duan, B. Tan, W. Xu, H. Ma, W. Zhang and Z. Liufu (2004) Effects of dietary protein to energy ratios on growth and body composition of juvenile Japanese seabass, *Lateolabrax japonicus*. *Aquaculture*, 230(1-4): 507-516.
- Anderson, D. P., A. K. Siwicki and G. L. Rumsey (1995) Injection or immersion delivery of selected immunostimulants to trout demonstrate enhancement of nonspecific defense mechanisms and protective immunity (M. Shariff, R. P. Subasighe and J. R. Arthur eds.). *Diseases in Asian Aquaculture Vol. 2*, Manila, Philippines, 413-426.
- Aoki, T. (1992) Chemotherapy and drug resistance in fish farms in Japan (M. Shariff, R. P. Subasighe and J. R. Arthur eds.). *Disease in Asian Aquaculture Vol. 1*, Manila, Philippines, 519-529.
- Bagni, M., N. Romano, M. G. Finioia, L. Abelli, G. Scapigliati, P. G. Tiscar, M. Sarti and G. Marino (2005) Short- and long-term effects of a dietary yeast beta-glucan (Macrogard) and alginic acid (Ergosan) preparation on immune response in sea bass (*Dicentrarchus labrax*). *Fish Shellfish Immunol.*, 18(4): 311-325.
- Baulny, M. O. D., C. Quentel, V. Fournier, F. Lamour and R. L. Gouvello (1996) Effects if long term oral administration of beta-glucan as an immunostimulant or an adjuvant on some non-specific parameters of the immune response of turbot, *Scophthalmus maximus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 26: 139-147.
- Bergmeyer, H. U., M. Høder and R. Rej (1986) Approved recommendation on IFCC methods for the measurement of catalytic concentration of enzymes. Part 3. IFCC Method for alanine aminotransferase. *European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry*, 24: 481-489.
- Blazer, V. (1991) Piscine macrophage function and

- nutritional influences: A review. *Journal of Aquatic Animal Health*, 3: 77-86.
- Castro, R., N. Couso, A. Obach and J. Lamas (1999) Effect of different  $\beta$ -glucans on the respiratory burst of turbot (*Psetta maxima*) and gilthead seabream (*Sparus aurata*) phagocytes. *Fish Shellfish Immunol.*, 9(7): 529-541.
- Chen, D. and A. J. Ainsworth (1992) Glucan administration potentiates immune defense mechanisms of channel catfish, *Ictalurus punctatus* Rafineque. *Journal of Fish Diseases*, 15(4): 295-304.
- Chen, H., Z. Gong, X. Su, S. Li, Y. Yang, Y. Zhang and J. Xie (2017) Dietary supplementation of kelp powder enhances growth performance and meat quality of grouper (*Epinephelus coioides*). *Journal of Aquatic Food Product Technology*, 26(4): 445-457.
- Chen, G., B. Yin, H. Liu, B. Tan, X. Dong, Q. Yang, S. Chi and S. Zhang (2020) Effects of fishmeal replacement with cottonseed protein concentrate on growth, digestive proteinase, intestinal morphology and microflora in pearl gentian grouper. *Aquaculture Research*, 51(7): 2870-2884.
- Choudhury, D., A. K. Pal, N. P. Sahu, S. Kumar, S. S. Das and S. C. Mukherjee (2005) Dietary yeast RNA supplementation reduces mortality by *Aeromonas hydrophila* in rohu (*Labeo rohita* L.) juveniles. *Fish Shellfish Immunol.*, 19(3): 281-291.
- Chung, S. and C. J. Secombes (1987) Analysis of events occurring within teleost macrophages during the respiratory burst. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 89B(3): 539-544.
- Cook, M. T., P. J. Hayball, W. Hutchinson, B. F. Nowak and J. D. Hayball (2001) The efficacy of a commercial  $\beta$ -glucan preparation, EcoActive, on stimulating respiratory burst activity of head-kidney macrophages from pink snapper (*Pagrus auratus*), Sparidae. *Fish Shellfish Immunol.*, 11(8): 661-672.
- Cook, M. T., P. J. Hayball, W. Hutchinson, B. F. Nowak and J. D. Hayball (2003) Administration of a commercial immunostimulant preparation, EcoActiva as a feed supplement enhances macrophage respiratory burst and the growth rate of snapper (*Pagrus auratus*, Sparidae (Bloch and Schneider)) in winter. *Fish Shellfish Immunol.*, 14(4): 333-345.
- Couso, I., V. Sanchez, E. Uriarte, A. Rodriguez and E. Alonso (2003) Polysaccharides from *Chlorella vulgaris* inhibit tumor growth in allogenic and syngenic mice models. *Planta Medica*, 69(11): 996-1000.
- Cuzon, G., A. Lawrence, G. Gaxiola, C. Rosas and J. Guillaume (2004) Nutrition of *Litopenaeus vannamei* reared in tanks or in ponds. *Aquaculture*, 235(1-4): 513-551.
- FAO (2020) The State of World Fisheries and Aquaculture 2020. Sustainability in action. Rome. <https://doi.org/10.4060/ca9229en>.
- Fujiki, K., S. Shinoda and T. Yano (1994) Studies on the resistance of carp, *Cyprinus carpio* L., to *Edwardsiella tarda*. IV. Protection of carp from *E. tarda* infection with *Aeromonas hydrophila* and the possible role of its exotoxin. *Journal of Fish Diseases*, 17(2): 179-186.
- Gong, L., H. He, D. Li, L. Cao, T. A. Khan, Y. Li, L. Pan, L. Yan, X. Ding, Y. Sun, Y. Zhang, G. Yi, S. Hu and L. Xia (2019) A new isolate of *Pediococcus pentosaceus* (SL001) with antibacterial activity against fish pathogens and potency in facilitating the immunity and growth performance of grass carps. *Frontiers in Microbiology*, 10: 1384.
- Gupta, M. V. and B. O. Acosta (2004) A review of global tilapia farming practices. *Aquaculture*, 9(1): 7-12.
- Kasanah, N., W. Amelia, A. Mukminin, Triyanto and A. Isnansetyo (2022) Antibacterial activity of Indonesian red algae *Gracilaria edulis* against bacterial fish pathogens and characterization of active fractions. *Natural Product Research*, 33(22): 3303-3307.
- Kanagaraj, D., S. Boopalan, N. Gobi and K. Dhevendaran (2018) Seaweeds (*Kappaphycus alvarezii* and *Porphyra vietnamensis*) as feed additives for enhancing growth and immune response in juvenile Sevenband grouper, *Epinephelus septemfasciatus*. *Journal of Applied Phycology*, 30(6): 3371-3379.
- Kiadaliri, M., F. Firouzbakhsh and H. Deldar (2020) Effects of feeding with red algae (*Laurencia caspica*) hydroalcoholic extract on antioxidant defense, immune responses, and immune gene expression of kidney in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) infected with *Aeromonas hydrophila*. *Aquaculture*, 526(15): 735361.
- Kuo, C., R. Ballantyne, P. Huang, S. Ding, M. Hong, T. Lin, F. Wu, Z. Xu, K. Chiu, B. Chen and C. Liu (2022) *Sarcodia suae* modulates the immunity and disease resistance of white shrimp *Litopenaeus vannamei* against *Vibrio alginolyticus* via the purine metabolism and phenylalanine metabolism. *Fish Shellfish Immunol.*, 127: 766-777.
- Lee, P., C. Wen, F. Nan, H. Yeh and M. Lee (2020) Immunostimulatory effects of *Sarcodia suae* water extracts on Nile tilapia *Oreochromis niloticus* and its resistance against *Streptococcus agalactiae*. *Fish Shellfish Immunol.*, 103: 159-168.
- Li, C., Y. Zhao, Y. Wang, L. Li, J. Huang, X. Yang, S. Chen and Y. Zhao (2022) Contribution of microbial community to flavor formation in tilapia sausage during fermentation with *Pediococcus pentosaceus*. *LWT-Food Science and Technology*, 154(15): 112628.
- Liang, M., S. Jiang, D. Yuan, K. Wei, Q. Zhang and D. Li (2017) Effects of different dietary levels of seaweed powder on growth performance, feed utilization, and immune and antioxidant responses of juvenile largemouth bass (*Micropterus salmoides*). *Fish Physiology and Biochemistry*, 43(1): 87-97.
- Liu, X., X. Tian and X. Zhou (2017) Effects of seaweed feed additive on growth and antioxidant





- enzyme activities of juvenile white shrimp *Litopenaeus vannamei*. *Aquaculture Nutrition*, 23(2): 387-394.
- Liu, F., C. Zhang, Y. Wang and C. You (2017) Effects of dietary supplementation of brown seaweed (*Undaria pinnatifida*) on growth, immune response and disease resistance of juvenile sea bass (*Lateolabrax japonicus*). *Aquaculture*, 472: 40-46.
- Pato, U., Y. Yusuf, S. Fitriani, D. A. Fauzi, G. Ismadiah, M. Hidayah and W. Sabiliani (2022) Evaluation of bacteriocin produced by *Pediococcus pentosaceus* strain 2397 as natural preservative for fish meatballs stored at room temperature. *Advances in Biological Sciences Research*, 342-347.
- Shang, Q., L. Feng, X. Zhou, Y. Liu and W. Jiang (2020) Dietary administration of seaweed-derived polysaccharides improves growth performance, immune responses, and antioxidant capacity of black sea bream (*Acanthopagrus schlegelii*). *Aquaculture*, 529: 735679.
- Shi, H., Y. Liu and Z. Cao (2019) Effects of dietary seaweed powder on growth, serum immune indices and antioxidant capacity of juvenile tilapia. *Aquaculture Nutrition*, 25(1): 170-179.
- Thum, G., M. G. Cappai, R. Bochart, H. Schubert and P. Wolf (2022) Nutrient profile of baltic coastal red algae (*Delesseria sanguinea*), baltic blue mussel (*Mytilus spp.*) and king ragworm (*Alitta virens*) as potential feed material in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss* Walbaum, 1792): a preliminary assessment. *Agriculture*, 12(2): 196.
- Verlhac, V., C. Gabillon, C. Obled and M. Lahaye (1996) Effect of dietary supplementation with intact and hydrolyzed krill and bovine cartilage on growth and proteoglycan metabolism of growing rats. *The Journal of nutrition*, 126(9): 2272-2282.
- Wan, A. H. L., S. J. Davies, A. Soler-Vila, R. Fitzgerald and M. P. Johnson (2019) Macroalgae as a sustainable aquafeed ingredient. *Reviews in Aquaculture*, 11(3): 458-492.
- Xing, C. F., H. H. Hu, J. B. Huang, H. C. Fang, Y. H. Kai, Y. C. Wu and S. C. Chi (2013) Diet supplementation of *Pediococcus pentosaceus* in cobia (*Rachycentron canadum*) enhances growth rate, respiratory burst and resistance against photobacteriosis. *Fish Shellfish Immunol.*, 35(4): 1122-1128.
- Yan, Q., Z. Li, X. Wang and W. Li (2016) Effects of different ratios of sea ear and fish meal on the growth performance of *Procambarus clarkia*. *Journal of Hubei University of Technology (Natural Science eds.)*, 31(2): 76-80.
- Yang, H., Y. Xu, Q. Mei, M. Zhou, Y. Huang, L. Wu and K. Mai (2016) Dietary supplementation of *Gracilaria lemaneiformis* powder enhances antioxidant and immune status of juvenile *Epinephelus coioides*. *Aquaculture Nutrition*, 22(3): 698-704.
- Zhang, Y., Q. Liu, J. Ye, Y. Liu, S. Sun, G. Wang and C. Li (2018) Dietary supplementation of brown seaweed powder enhances growth, intestinal health, and reduces *Vibrio* abundance in juvenile grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). *Aquaculture*, 492: 230-238. doi: 10.1016/j.aquaculture.2018.03.047
- Zhang, J., Y. Liu, J. Zhang, Y. Zhou and Z. Wu (2020) Effects of dietary supplementation of different levels of laminarin on growth performance, hepatic lipogenic enzymes activities, and immune responses of common carp (*Cyprinus carpio*). *Aquaculture Nutrition*, 26(1): 190-201. doi: 10.1111/anu.12974.



國家圖書館出版品預行編目 (CIP) 資料

水產益健飼料= The pro-health aquafeed /何源興、吳豐成、李沛珊、周芷儀、周瑞良、易琮凱、林佳勳、郭裔培、陳建彰、陳盈達、陳凱琳、曾福生、黃侑勛、黃美瑩、楊順德、劉佩紋、蔡慧君、鄭世榮、謝豐群、蘇慧敏著. -- 基隆市：農業部水產試驗所, 民113.11

面；公分

ISBN 978-626-7454-68-8 (平裝)

1.CST: 飼料 2.CST: 水產養殖 3.CST: 文集

438.611

113015456

## The Pro-health Aquafeed

發行人：張錦宜

編輯委員：葉信明、曾振德、蔡惠萍、張可揚、曾福生、蔡慧君、吳豐成、何源興

主編：楊順德、劉佩紋

著者：何源興、吳豐成、李沛珊、周芷儀、周瑞良、易琮凱、林佳勳、郭裔培、陳建彰、陳盈達、陳凱琳、曾福生、黃侑勳、黃美瑩、楊順德、劉佩紋、蔡慧君、鄭世榮、謝豐群、蘇慧敏

校稿：劉佩紋

責任編輯：劉佩紋

編輯：李周陵

出版者：農業部水產試驗所

地址：基隆市中正區 202008 和一路 199 號

電話：(02)24622101

傳真：(02)24629388

網址：<https://www.tfrin.gov.tw>

設計印刷：群鋒企業有限公司

電話：(02)22262055

定價：新臺幣 200 元

出版日期：一一三年十一月

展售處：

1. 五南文化廣場臺中總店 臺中市中山路 6 號 (04)22260330

2. 國家書店 臺北市松江路 209 號 1 樓 (02)25180207

<https://www.govbooks.com.tw>

GPN 1011301310

ISBN 978-626-7454-68-8

本書內容保留所有權，非經本所同意，不得重製、數位化或轉載。



本書採用環保大豆油墨印製



益健飼料



ISBN 9786267454688



00200